

(19) BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES

PATENT- UND
MARKENAMT

Offenlegungsschrift

(10) DE 197 25 894 A 1

(51) Int. Cl. 6:

B 01 J 3/04

C 12 M 1/12

C 12 M 1/36

AJ

(21) Aktenzeichen: 197 25 894.8

(22) Anmeldetag: 19. 6. 97

(43) Offenlegungstag: 24. 12. 98

(71) Anmelder:

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH
(GBF), 38124 Braunschweig, DE

(74) Vertreter:

Patentanwälte Dr. Boeters, Bauer, Dr. Forstmeyer,
81541 München

(72) Erfinder:

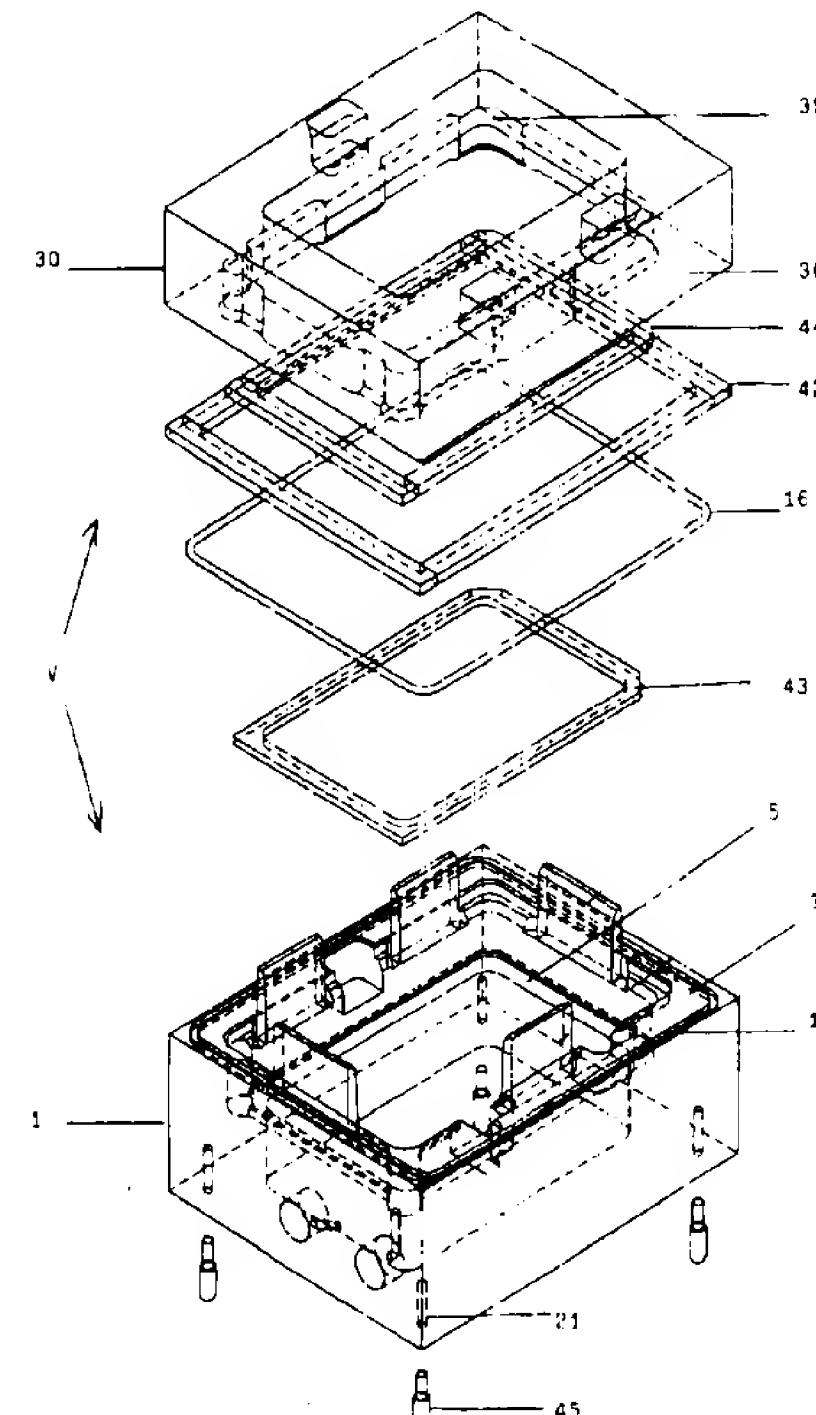
Blöcker, Helmut, Dr., 38124 Braunschweig, DE;
Kauer, Gerhard, 38124 Braunschweig, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

(54) Differentielle Vakuumkammer

(57) In einer Vakuumkammer, die mindestens zwei Vakuumbereiche aufweist, werden Substanzen, insbesondere Flüssigkeiten, gezielt von einem Bereich in den anderen durch Anlegen eines entsprechenden Vakuums transportiert. Dadurch wird es mit der Verwendung von Filter- oder Aufnahmeträgern möglich, automatisch eine Flüssigkeit während einer Plasmidpräparation durch entsprechende Filterträger zu transportieren. Die Vakuumkammer wird von einem automatisch arbeitenden Greifroboter beschickt und von einer entsprechenden Ventilsteuerung geschaltet. Durch die Einbindung der Vakuumkammer mit ihrem Greifroboter und der Ansteuerung in ein Pipettierrobotersystem ist eine automatische Plasmidpräparation beispielsweise nach dem Qiagenprotokoll möglich.



DE 197 25 894 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vakuumkammer sowie ein Vakuumsystem unter Verwendung der Vakuumkammer zum gerichteten Transport einer Substanz, insbesondere einer Flüssigkeit, und deren Verwendung in einer Vorrichtung zur automatischen Plasmidpräparation.

In den vergangenen Jahren wuchs das Ausmaß der Anstrengungen, die komplette Erbinformation ganzer Organismen zu erhalten. Beginnend mit der Sequenzierung eines Phagengenoms (Bakteriophage T7 : 38000 Basenpaare, Bakteriophage λ: 48514 Basenpaare), über das Genom von Escherichia coli ($4.2 \cdot 10^6$ Basenpaare) bis hin zur Hefe Saccharomyces cerevisiae ($2.3 \cdot 10^7$ Basenpaare) als ersten Vertreter der Eukaryonten steigerte sich die Anzahl der zu sequenzierenden Basenpaare um das fast 600-fache. Mittlerweile ist das Erbgut des Menschen mit mehr als $3 \cdot 10^9$ Basenpaaren im "Human Genome Project" Ziel dieser Anstrengungen geworden. Die enormen Mengen zu sequenzierender DNA können mit den bisherigen Labormitteln und Laborpersonal kaum bewältigt werden. So sind neue Technologien gefragt, die den Probendurchsatz in diesen Forschungsvorhaben bei vertretbarem finanziellem Aufwand erheblich erhöhen können. Dabei treten in der laufenden Entwicklung zwei sich gegenseitig beeinflussende Strategien zutage: nämlich einerseits die Miniaturisierung der Laborabläufe und andererseits die unüberwachte Automatisierung bewährter Laborprozeduren.

Bei der Miniaturisierung von Laborabläufen gibt es miniaturisierte Elektrophoreseanalysatoren, in denen die Trennung von Biomolekülen aufgrund ihrer Ladung und Größe ausgenutzt wird. Derartige miniaturisierte Elektrophoreseanalysatoren werden mittels Mikrostrukturen in Elektrophoreschips realisiert. Ferner gibt es miniaturisierte PCR-Maschinen, wobei bei der Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction = PCR) bis zu 6 Kilobasen große DNA-Fragmente vervielfacht werden. Ferner sind miniaturisierte Probenarrays und miniaturisierte Detektionssysteme bekannt. Diese beschriebenen miniaturisierten Elemente können zu größeren Einheiten zusammengefaßt werden, so daß man zu einer kompletten miniaturisierten Laboreinheit kommt.

Andererseits ist es zur Automatisierung eines Labors nicht zwingend notwendig, die Routineverfahren zu miniaturisieren. Es ist ebenfalls möglich, ein Robotersystem zu konzipieren, das die manuellen Tätigkeiten des Menschen ganz oder teilweise ersetzt, um eine Steigerung des Probendurchsatzes zu erreichen. Die folgenden manuellen Tätigkeiten sind typisch für eine Laborpräparation (mit besonderem Schwerpunkt auf Plasmidpräparation als Vorbereitung zur PCR-Sequenzierung) und müssen durch geeignete Roboter gewährleistet sein:

- Pipettieren,
- Transport von Verbrauchsmaterial und Chemikalien,
- Durchsaugen von Flüssigkeiten durch Filter, Membranen, durchlässige Festkörper o.a.,
- PCR-Reaktion.

Heutige Pipettierroboter lokalisieren auf einer Arbeitsfläche normiertes Labormaterial an definierten Positionen und ermöglichen so die Installation von erprobten Laborprotokollen. Beispielsweise können auf diese Maschinen über Hilfsroboter Mikrotiterplatten, Pipettenspitzen oder Reservoirs für Pufferlösungen usw. eingestellt, bzw. nach Gebrauch wieder aus dieser Arbeitsstation entfernt werden. So können alle notwendigen Pipettierschritte zur Vorbereitung einer PCR- oder einer Plasmidpräparation abgearbeitet wer-

den, um dann das Produkt dieser Pipettierung zur weiteren Präparation über einen Greifroboter in eine entsprechende Maschine einzustellen.

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfacht ein DNA-Segment, wenn es zwischen zwei definierten Primerstellen eingeschlossen ist. Werden gleiche Mengen an Primern eingesetzt, dann entstehen über die PCR doppelsträngige DNA-Kopien, wird hingegen ein Primer im Überschuß eingesetzt, dann erhält man diesen Überschuß entsprechend einzelsträngige Kopien der vervielfältigten DNA. Sowohl einzelsträngige als auch doppelsträngige DNA kann zur Sequenzierung eingesetzt werden. In sequenzintensiven Projekten werden die zu analysierenden DNA-Fragmente in Plasmide kloniert, die dann zunächst in einem auf Agar wachsenden definierten Raster von Bakterienkolonien (Escherichia coli Blue) vorliegen. Auch das anschließende Aufnehmen der Kolonien aus diesem Raster in Kulturröhrchen kann automatisiert werden. Die lebenden Bakterienklone liefern dann über eine ca. 12 Stunden dauernde Inkubationszeit (37°C) genügend Material, um in einer Präparation die zur Sequenzierung notwendigen Plasmidkopien zu gewinnen. Die Gewinnung derartiger gereinigter Plasmide zur Sequenzierung wird beispielsweise durch die QIAWELL 96 Ultraplasmid-Reinigungsprozedur erreicht. In derartigen Plasmidpräparationsverfahren treten Filtrievorgänge auf, bei denen eine Flüssigkeit von einem Filter in mindestens einen zweiten Filter gerichtet transportiert werden muß und durch ihn entweder ebenfalls hindurchtritt oder einfach kontrolliert aufgefangen wird.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zu schaffen, in der gerichtete Substanzbewegungen automatisch durchgeführt werden können.

Diese Aufgabe wird durch den Gegenstand der Ansprüche 1, 32 und 34 gelöst. Bevorzugte Ausgestaltungen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vakuumkammer zum gerichteten Transport einer Substanz, insbesondere eines Fluids, wobei in der Vakuumkammer ein permeables Mittel und ein Auffangmittel eingesetzt sind, so daß mindestens zwei unabhängig voneinander einstellbare Vakuumbereiche definiert werden, nämlich ein erster Vakumbereich zwischen dem permeablen Mittel und dem Auffangmittel und ein zweiter Vakumbereich zwischen dem Auffangmittel und dem Boden der Vakuumkammer, und in den beiden Vakumbereichen unabhängig voneinander Vakuum erzeugt werden kann, so daß die Substanz, insbesondere die Flüssigkeit, aus dem ersten permeablen Mittel in das Auffangmittel gesaugt werden kann. Unter Fluiden werden hier Gase, Flüssigkeiten, Dämpfe und Rauch verstanden.

Vorzugsweise ist das zweite Mittel ebenfalls permeabel, so daß das Fluid bzw. die Flüssigkeit durch Anlegen eines Vakuums an den zweiten Bereich durch das zweite Mittel in den zweiten Bereich gesaugt wird. Im allgemeinen weist die erfindungsgemäße Vakuumkammer genau zwei Vakumbereiche auf. Es sind jedoch auch mehr als zwei Vakumbereiche möglich, falls beispielsweise mehrere Filterungen direkt nacheinander vorgenommen werden sollen.

Ferner werden die permeablen Mittel durch Filterträger mit einer Vielzahl von Filterelementen gebildet, so daß Flüssigkeit definiert von einem bestimmten Filterelement der ersten Filterträgers in ein entsprechendes Filterelement des zweiten Filterträgers transportiert werden kann und durch diesen wiederum in den zweiten unteren Bereich der Vakuumkammer. Die Auffangmittel sind ebenfalls Auffangträger mit einer definierten Anzahl von Auffangelementen. Im Falle eines Auffangträgers wird daher die Substanz, insbesondere die Flüssigkeit, durch den ersten Filterträger in den Auffangträger transportiert.

Weiterhin besteht die Vakuumkammer aus einem Deckel und einem Unterteil, wobei das Unterteil der Vakuumkammer einen Absatz zur Aufnahme des unteren Filterträgers aufweist. Ferner sind in den Seitenwänden der Kammer Aussparungen für den Greifer des Roboters vorgesehen, um die Filterplatten bzw. Filterträger automatisch einsetzen und entnehmen zu können. Zur exakten Aufnahme und Führung der Filterträger bzw. Auffangträgers weist das Unterteil der Vakuumkammerführungslaschen mit korrigierenden Phasen auf. Vorzugsweise haben die Führungslaschen zwei unterschiedliche Phasenwinkel, wobei der erste Phasenwinkel ca. 30° und der zweite Phasenwinkel ca. 0°–2° beträgt. Weiterhin können die Führungskanten der Wand, mit der die Filterträger beim Einsetzen in Berührung kommen, abgephast sein. Vorzugsweise weist der Deckel eine abgephaste Führungskante auf, so daß der Deckel beim Aufsetzen an der Führungskante des Deckels zentriert wird. Vorzugsweise beträgt der Kantenphasenwinkel 30°. Ferner weist der Deckel im Wandbereich Aussparungen für den Robotergreifer sowie eine Auflagefläche für den oberen Filterträger auf.

Das Verdichtungsmaterial für den oberen Filterhalter weist vorzugsweise eine Härte von ca. 20 Shore auf, wobei ferner an der Verbindungsstelle Deckel/Unterteil die Verdichtung aus einer Kombination O-Ring und elastischem Dichtungsband gebildet wird, wobei der O-Ring mit ca. 60 Shore und das Dichtungsband mit ca. 30 Shore dichtet. Weiterhin wird am unteren Filterträger über eine 60 Shore harte Gummiauflage verdichtet.

Das Oberteil weist entsprechende Aufnahmen zum Aufnehmen der Führungslaschen auf, so daß der Deckel mittels der Führungslaschen auf dem Unterteil zentriert wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform weisen die Filterträger N, wobei N insbesondere 96 beträgt, schlotförmige Einzelfilter auf, die zu einem Filterträger verbunden sind. Dieselbe Situation liegt beim Auffangträger vor. Ferner sind auf den entsprechenden vier Eckschlöten der beiden Filterträger bzw. des Filter- und des Auffangträgers Abstandshülsen angebracht, die neben ihrer Funktion der Definition des ersten Vakumbereichs die vertikale Korrektur von Fehlstellungen des unteren Filterträgers korrigieren, indem sie in Zentrierschächte des Vakuumunterteiles eingreifen. Die Abstandshülsen haben vorzugsweise eine teilzylindrische Form, um das Vakuum auf die Eckschlöte einwirken zu lassen. Ferner können die Abstandshülsen abgephast sein, so daß eine zusätzliche Zentrierung der Filterträger beim Einsetzen erzielt wird. Ein Filterträger kann einstückig aus einer Vielzahl Filterelemente bestehen, oder auch aus einer Vielzahl einzelner Filterelemente zusammengesetzt sein.

Vorzugsweise ist die Länge der Abstandshülsen derart gewählt, daß sich die Auslaßspitzen des oberen Filterträgers innerhalb der Schloste des unteren Filterträgers bzw. Auffangträgers befinden, so daß ein kontrollierter Transport der Flüssigkeit durch miteinander korrespondierende Schloste oder Elemente erzielt wird. Vorzugsweise befinden sich die Auslaßspitzen der Elemente des oberen Filterträgers 1,5 mm innerhalb der entsprechenden Schloste der Filterelemente oder Auffangelemente des entsprechenden unteren Trägers. Dadurch wird ein Kontaminieren nicht korrespondierender Elemente vermieden.

Vorzugsweise sind die Vakuumkammer und die Abstandshülsen aus Plexiglas entsprechender Stärke gefertigt, was eine optische Kontrolle zuläßt. Zur industriellen Herstellung kann die Vakuumkammer aus einem gegossenen Kunststoff bestehen, was eine kostengünstige Fertigung ermöglicht. Spritzgußverfahren, Fräsenverfahren können ebenfalls verwendet werden.

In dem Unterteil der Vakuumkammer ist ein Absaugschacht für den ersten Vakumbereich und ein Absaug-

schacht für den zweiten Vakumbereich angeordnet. Durch den Absaugschacht des zweiten Vakumbereichs wird bei einer Filtration durchtretende Flüssigkeit direkt aus der Vakuumkammer entfernt.

5 Ferner betrifft die vorliegende Erfindung ein Vakuumsystem mit mindestens einer Vakuumpumpe und einem elektronisch geregelten Ventil für den unteren Kammerbereich, einem elektronisch geregelten Ventil für den mittleren Kammerbereich, einem Ventil zur Zerstörung des Schleichvakuums im unteren Kammerbereich und einer zwischen den Ventilen und dem Anschluß an den unteren Bereich der Vakuumkammer eingelassener Vakuumfalle zur Aufnahme des Abfallvolumens. Dabei kann jedes Proportionalventil über eine eigene Ansteuerelektronik verfügen, die von der Kontrollsoftware über ein Decodiergerät von einem PC angesteuert werden kann.

10 Weiterhin betrifft die Erfindung eine Vorrichtung zur automatischen Plasmidpräparation mit einem Vakuumsystem zur Automatisierung eines gerichteten Substanzztransports, 20 einem Pipettierroboter und einem Greifroboter, wobei der Greifroboter die Filterträger nach der Pipettierung durch den Pipettierroboter in die Vakuumkammer einsetzt und den Deckel schließt, sowie nach Filtrierung die Kammer öffnet und die Filterträger entnimmt und der Weiterverarbeitung 25 zuführt. Eine derartige Vorrichtung wird vorzugsweise von einem Rechner gesteuert. Es ist auch möglich, nur mit einem Roboter zu arbeiten, der die Greif- und Pipettierfunktionen übernimmt.

30 Weiterhin weist die Vorrichtung einen Trockner für Filterträger auf, da bei einigen Präparationsverfahren der letzte Präparationsschritt ein Waschen mit Alkohol ist, so daß der an dem letzten Träger anhaftende Restalkohol entfernt werden muß.

35 Vorteilhafterweise ist die Vakuumkammer Teil eines größeren Robotersystems, das zur Unterstützung aller gängigen Präparationsmethoden molekularbiologischer Verfahren eingesetzt werden kann. Daher wurde ein modulares Design verwirklicht, das es ermöglicht, die apparativen Komponenten der Vorrichtung zur automatischen Präparation auf die 40 jeweilige Fragestellung einzurichten. Ferner ist das eingesetzte Robotersystem nicht rückgekoppelt, was bedeutet, daß keine visuelle oder andere sensorische Kontrolle über den aktuellen Ist-Zustand möglich ist. Daher müssen sich alle beweglichen Komponenten des Systems an möglichst exakt definierten Positionen befinden. Werden Komponenten durch einen Roboterarm bewegt, dann ist es wichtig, daß sich diese bewegten Komponenten bei ihrer erneuten Wiederaufnahme durch den Roboter an genau definierten Positionen befinden. Die Vakuumkammer ist zudem als Modul 45 aus dem System entfernbare, damit an ihrer Position andere Modulsysteme für andere Methoden eingesetzt werden können. Daher richtet sich die Plazierung aller Hilfssysteme für die automatisierte Präparation am Pipettierroboter aus. Um daher während der "Lernphase" des Systems die aktuelle Position des Greifroboters optisch kontrollieren zu können, wird vorteilhafterweise die Vakuumkammer aus Plexiglas 50 oder einem anderen durchsichtigen Kunststoff gefertigt. Es ist jedoch auch ohne weiteres möglich, ein rückgekoppeltes Robotersystem zu verwenden, bei dem die Rückkopplung wird Sensoren bewirkt wird.

55 Durch die Verwendung des Vakuums ist es möglich, Flüssigkeit in zwei zeitlich wohldefinierten Schritten aus einem Filter in beispielweise einen darunter befindlichen zweiten Filter zu transportieren, um durch diesen in den untersten Bereich abgesaugt und entsorgt zu werden.

60 Die Erfindung, insbesondere die Vakuumkammer mit ihren mindestens zwei voneinander unabhängigen Vakumbereichen ist jedoch nicht auf den Flüssigkeitstransport in der

Filtrierphase einer Plasmidpräparation begrenzt. Andere Anwendungen wären die Trennung von Gemischen, das Auslösen von Reaktionen, Herstellen von Adsorptionsvorgängen durch die, allgemein ausgedrückt, Automatisierung eines gerichteten Substanztransports durch das Bereitstellen von mindestens zwei unabhängig voneinander einstellbaren Vakuumbereichen. Dabei ist unter Substanz ein einzelner Stoff oder ein Stoffgemisch in der Form einer Flüssigkeit, Gas oder Rauch zu verstehen. Ferner sind als permeable Mittel nicht nur Filterträger einsetzbar, sondern die Verwendung beispielsweise einer Arrays von miniaturisierten Chromatographiesäulen ist ebenfalls möglich, wodurch sich noch ein zeitlich aufgelöster Substanztransport verwirklichen läßt.

Bevorzugte Ausführungsform der Erfindung werden im folgenden anhand der Zeichnungen erklärt.

Fig. 1 zeigt das Schema eines Verfahrensablauf einer Plasmidreinigungsprozedur entsprechend einem Protokoll der Firma Qiagen,

Fig. 2 zeigt in perspektivischer Darstellung das Unterteil 10 der Vakuumkammer,

Fig. 3 zeigt in perspektivischer Darstellung den Deckel der Vakuumkammer,

Fig. 4 zeigt eine Explosionszeichnung der erfindungsgemäßen Vakuumkammer,

Fig. 5 zeigt eine in der Vakuumkammer verwendete Zentrierlasche,

Fig. 6 zeigt eine Abstandshülse in Längsdarstellung, Querschnitt und Seitenaufriss,

Fig. 7 zeigt einen Querschnitt der Vakuumkammer mit eingesetzten Filterträgern und nicht geschlossenem Deckel,

Fig. 8 zeigt einen Querschnitt durch die Vakuumkammer mit eingesetzten Filterträgern und aufgesetztem Deckel,

Fig. 9 zeigt eine Schemadarstellung des Ventilsystems,

Fig. 10 zeigt eine Schemadarstellung der gesamten Vorrichtung zur automatischen Plasmidpräparation,

Fig. 11 zeigt eine Schemadarstellung des Elektronikmoduls Vakuumkammer, und

Fig. 1 zeigt das Ablaufschema einer Plasmidpräparation bzw. -Reinigung, wie dies beispielsweise seitens der Fa. Qiagen eingesetzt wird. Im Schritt I werden die zu analysierenden DNA-Fragmente in Plasmide kloniert, die dann zunächst in einem auf Agar wachsenden definierten Raster von Bakterienkolonie (*Escherichia coli* Blue) vorliegen. Die lebenden Bakterienklone liefern dann über eine ca. 12 Stunden dauernde Inkubationszeit bei 37°C genügend Material, das nach dem folgenden Schema gereinigt wird. Die nach dem Zentrifugieren erhaltenen Pellets werden in den Röhrchen im Schritt I wieder aufgeschwemmt und lysiert. Die Proben werden jeweils in ein Filterelement eines Filterträgers (QIAfilter 96 (gelb)) im Schritt II pipettiert. In dem Filterträger des Schritts II werden die Zellwände etc. im Filter zurückgehalten, während die DNA-Stränge durch die Flüssigkeit in die entsprechenden Schlote des nächsten Filterträgers im Schritt III geschwemmt werden. In den Filterelementen dieses zweiten Filterträgers (QIAwell 96 (weiß)) des Schritts III adsorbiert die DNA an den Filtern, während die Filterflüssigkeit nach unten fließt. Mit einer Pufferflüssigkeit wird die DNA an den Filterelementen des zweiten Filterträgers gewaschen und durch einen Elutionspuffer in einen dritten Filterträger (QIApreg 96 (blau)) im Schritt IV verbracht. Von dort wird die DNA bzw. die Plasmide in einen Träger bestehend aus Auffangelementen im Schritt V eluiert. Diese in den einzelnen Röhrchen aufgefangenen Plasmide können auf eine PCR-Maschine gebracht werden (nicht dargestellt), um einerseits die Kopienzahl der DNA zu erhöhen und/oder andererseits eine PCR-Sequenzierung durchzuführen.

Fig. 2 zeigt in perspektivischer Darstellung das Unterteil 1 einer Vakuumkammer V, die dazu dient, Flüssigkeit von einem oberen Filterträger (nicht dargestellt) in einen unteren Filterträger (nicht dargestellt) oder Auffangträger (nicht dargestellt) zu transportieren. Dadurch können die verschiedenen Filtrationsschritte II bis V des Plasmidreinigungsverfahrens nach beispielsweise dem Qiagen-Protokoll der **Fig. 1** automatisch beispielsweise unter Verwendung eines Roboters ablaufen, wobei die Flüssigkeiten mittels Unterdruck von einem oberen in einen unteren Filterträger bzw. durch diesen hindurch gesaugt werden.

Das Unterteil 1 der Vakuumkammer V, umfaßt einen Innenraum 2, der in einen Kammerboden 3 und einen Oberteil 4 unterteilt ist, wobei die Unterteilung durch einen umlaufenden Sims 5 vorgenommen wird, auf den der untere Filterträger bzw. Aufnahmeträger angeordnet wird. Durch diesen Sims 5 ist der Querschnitt des Kammerbodenbereichs 3 geringfügig kleiner als der des Oberteils 4. Entlang des Sims 5 ist wandseitig eine Nut 6 eingefräst, deren Bedeutung später erklärt werden wird. Das Unterteil 1 weist Absaugschächte 7, 8 auf, wobei der Absaugschacht 7 zur Absaugung des unteren Kammerbodenbereichs 3, dient, während der Absaugschacht 8 Vakuum im oberen Vakumbereich zwischen dem oberen und unteren Filterträger erzeugt. Zur positionsgenauen Anordnung der Filterträger F1, F2 in die Vakuumkammer V sind im oberen Bereich des Unterteils 1 Führungslaschen 9, 10, 11, 12 und 13 eingelassen, die über das Unterteil 1 herausragen. Ferner weist die obere Stirnfläche 14 des Unterteils 1 eine Nut 15 zur Aufnahme eines Dichtgummis 16 (nicht dargestellt) auf. Die Führungslaschen 9 bis 13 sind mit korrigierenden Phasen versehen, so daß eine Zwangsjustierung des Filterträgers F1, F2 bei seinem Einsetzen vorgenommen wird. Um den Filterträger F1, F2 einzusetzen zu können, sind in dem Unterteil 1 der Vakuumkammer in den gegenüberstehenden Seitenwänden Griffmulden 17, 18 und 19, in die Greiffinger einer Roboterhand eingreifen, vorgesehen. Weiterhin weist das Unterteil 1 korrigierende Phasen 20 an den Führungskanten der Kammer auf, die mit dem Filterträger bzw. an dem Filterträger befestigten Abstandshülsen, in Kontakt kommen. Zur Fixierung der Vakuumkammer V in dem Gesamtsystem sind Fixierbohrungen 21 vorgesehen. Für eine Verwendung der Vakuumkammer V mit anderen Filterträgern oder anderen Filtersystemen weist der Unterteil 1 der Vakuumkammer zusätzlich in Ecken ausgefräste Zentrierschächte 22 und 23 auf.

Fig. 3 zeigt eine Ansicht des Deckels 30 der Vakuumkammer V, und zwar in einer Ansicht von unten. Zum Bewegen des Deckels 30 weist dieser ebenfalls Griffmulden 31, 32 und 33 für die Robotergreifer auf. Weiterhin umfaßt der Deckel eine 30°-Phase 34 an der Kante zur Aufnahme des oberen Filterträgers F1 (nicht dargestellt). Ferner ist im Inneren ein Sims 35 als Auflagefläche für den Filterträger F1 angeordnet, auf der der Filterträger F1 mittels eines entsprechenden Dichtungsmaterials abgedichtet wird. Weiter umfaßt der Deckel 30 eine Auflagefläche 36, die das Gegenstück zur Dichtstirnfläche 14 des Unterteils 1 bildet. Im Deckel 30 sind entsprechende Aussparungen 37, 38, 39, 40 und 41 vorgesehen, in die die Führungslaschen 9 bis 13 des Unterteils 1 beim Aufsetzen des Deckels 30 eingreifen und diesen endgültig justieren. Der Deckel 30 ist in der bevorzugten Ausführungsform nach oben (in der **Fig. 3** nach unten) offen. Dies ist jedoch durch die spezielle Verwendung der Filterträger bedingt, die voraussetzen, daß auf der Oberseite des oberen Filterträgers normaler Atmosphärendruck herrscht, um die Flüssigkeit durch das Druckdifferential zwischen äußerem Luftdruck und oberen Vakumbereich durch die Filterelemente zu transportieren. Bei anderen Anwendungen, wo beispielsweise keine Dämpfe in die Umge-

bung entweichen dürfen, kann der Deckel 30 auch geschlossen sein.

Fig. 4 zeigt eine Explosionsdarstellung der Vakuumkammer V bestehend aus dem Unterteil 1 und dem Deckel 30, wobei das Unterteil 1 und der Deckel 30 mittels einer Dichtung 16, die in der Nut 15 liegt, gegeneinander abdichten. Die Dichtung 16 drückt nicht direkt gegen die Dichtfläche 36 des Deckels 30, sondern dazwischen befindet sich noch ein umlaufendes Dichtungsband 42 mit einer Härte von 30 Shore. Eine Dichtung 43, die den unteren Filterträger (nicht eingezeichnet) gegen den Sims 5 des Unterteils 1 abdichtet, ist lose auf den Sims 5 gelegt. Die Dichtung 43 des unteren Filterträgers F2 ist vorzugsweise eine Gummiauflage mit einer Härte von 60 Shore. Der obere Filterträger F1 wird über ein Dichtungsband 44 gegen die Dichtfläche 35 des Deckels 30 abgedichtet. Die Härte der Dichtung 44 beträgt ca. 20 Shore.

Ferner sind Bolzen 45 dargestellt, mit denen die Vakuumkammer V über die Bohrungen 21 fixiert wird.

Fig. 5 zeigt eine zum Zentrieren verwendete Führungslasche 9 bis 13 in Draufsicht, Seitenansicht und perspektivischer Darstellung. Es ist zu erkennen, daß die Führungslasche 9 zwei voneinander unterschiedliche Phasen 50, 51 aufweist, wobei die erste Phase einen Winkel von ca. 30° und die zweite Phase einen Winkel von ca. 0 bis 5, vorzugsweise 2°, aufweist. Die in der **Fig. 5** dargestellten Größenangaben sind in mm und die Größe einer Führungslasche beträgt 30 × 30 × 5 mm (Höhe × Breite × Dicke).

Fig. 6 zeigt die Abstandshülsen 60 für die Filterhalter F1, F2, die auf die jeweiligen äußeren Eckschlote eines Filterträgers gesteckt werden. Diese Abstandshülsen 60 dienen einerseits zur endgültigen Justage des unteren Filterträgers F2 und zum Definieren eines gewünschten Abstandes zwischen dem oberen F1 und unteren Filterträger, um den oberen Vakumbereich VO zwischen den Filterträgern zum Durchsaugen der Flüssigkeit aus dem oberen Filterträger in den unteren Filterträger zu schaffen. Würden die Filterträger F1, F2 in der Vakuumkammer V auf einfache Weise übereinander gestellt, so wäre es unmöglich, zwei getrennte Vakumbreiche in der Kammer V einzustellen. Die Auslaßstutzen mit Auslaßspitzen 82 der Filterschlöte 83 des oberen Filterträgers F1 passen dicht in die Filterschlöte 81 des darunter befindlichen Trägers F2, so daß ein sich im Zwischenbereich einstellendes Vakuum VO nicht in der Lage wäre, die sich in den Schlöten des oberen Filterhalters F1 befindliche Präparationsflüssigkeit abzusaugen. Deshalb ist es notwendig, einen ausreichend großen Spalt, d. h. oberen Vakumbereich VO, zwischen die beiden Filterträger F1, F2 anzurufen. Weiterhin ist es aus präparationstechnischen Gründen unabdingt notwendig, ein zufälliges Verspritzen der abtropfenden Flüssigkeit in benachbarte Schläote des unteren Filtersystems F2 zu unterbinden. Eine Kreuzkontamination von benachbarten Proben wäre sonst die Folge, was das Ergebnis der Präparation unbrauchbar machen würde. Daher wird der Abstand der beiden Filterträger F1, F2 so bemessen, daß sich die Auslaßspitzen 82 des oberen Filterträgers F1 ca. 1,5 mm innerhalb der Filterelemente 81 der Schläote des unteren Filterträgers F2 befinden. Um diesen Abstand und die Definition des ersten Vakumbereichs zu gewährleisten, werden daher zylinderförmige Abstandshülsen 60 eines definierten Radius auf die Eckschlöte gesteckt, wobei die Abstandshülsen 60 aufgefräst sind, d. h. mit einem breiten Längsspalt 61 versehen sind, so daß auch die Eckschlöte ausreichend mit Vakuum beaufschlagt werden. Zur Justierung des unteren Filterträgers F2 sind die Stirnseiten 62 der Abstandshülsen 60 angephast. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Abstandshülse 60 31,5 mm lang und weist einen Außendurchmesser von 11,4 mm auf, wobei die Höhe

des teilweise offenen Zylinders 7,8 mm beträgt. Der Innendurchmesser ist auf 9,2 mm festgelegt und die stirnseitige Phase beträgt 0,5 mm x 45°. Dieser 45°-Phaseneinschnitt stellt den ersten mechanischen Kontakt zu den entsprechenden Führungen des Unterteils 1 her. Über die Geometrie der Abstandshülsen bewirkt die weitere Abwärtsbewegung des Greifarms die notwendigen Korrekturen zur exakten Aufnahme der Filterträger F1, F2. Zwecks einfacher Handhabung im Laborbetrieb sind die Abstandshülsen 60 aus einem Material gefertigt, das einerseits die flexiblen Eigenschaften von Clipsfedern hat, andererseits jedoch ausreichende Chemikalienresistenz und Steifigkeit aufweist, so daß die Abstandshülsen 60 federnd auf die vier Eckschlote der Filterträger F1, F2 gesteckt werden können. Daher wurden 1,5 mm dicke Hülsen 60 aus Plexiglas gewählt. Für eine industrielle Herstellung können diese auf ökonomische Weise aus Plexiglasrohren hergestellt werden. Der zum Aufstecken auf die vier Eckschlote notwendige Spalt 61 ist ausreichend groß, um das Einstellen des Vakuums dort nicht zu behindern. Diese Abstandshülsen können auch an die Filterträger fest angeordnet werden, beispielsweise in einem Spritzgußverfahren o. a.

Fig. 7 zeigt die in dem Unterteil 1 der Vakuumkammer V übereinander angeordneten unteren und oberen Filterträger F1, F2, wobei die Auslaßspitzen 80 der einzelnen Filterelemente 81, die hier als Schläote ausgebildet sind, des unteren Filterträgers F2 in den unteren Vakumbereich VU der Vakuumkammer V hineinragen. Die Auslaßspitzen 82 der Filterelemente 83 des oberen Filterträgers F2 ragen in den oberen Schlotbereich der Filterelemente 81 des unteren Filterträgers F2. Durch die entsprechende Wahl der Abstandshülsen 60, die auf dem unteren Filterträger F2 aufstehen, wird der obere Vakumbereich VO definiert. Dargestellt ist ferner der Deckel 30 vor dem Aufsetzen auf das Unterteil 1, wobei das Unterteil 1 in seiner Dichtfläche 14 eine Nut 15 mit einem Dichtgummi 16 aufweist, die gegen die Dichtung 42 der Dichtfläche 36 des Oberteils 30 dichtet. Der obere Filterträger F1 dichtet gegen die Dichtung 44 des Oberteils 30. Seitlich in der **Fig. 7** dargestellt sind nochmals die beiden Filterträger F1 und F2 zu sehen. Die aus den Filterelementen 81, 83 bestehenden Filterträger F1 und F2 können einstükkig ausgebildet sein. Es ist jedoch auch möglich, daß beispielsweise mittels des Zusammensteckens einzelner Filterelement 81 bzw. 83 über entsprechende Verbindungen ein Filterträger F1, F2 sozusagen modular aufgebaut werden kann. Ferner weisen die Filterträger F1, F2 Seitenwände 84 auf. Dabei steht der untere Filterträger F2 auf der Dichtung 43 des Sims 5 des Unterteils 1 der Vakuumkammer auf und bildet so den unteren Vakumbereich VU, der über den Absaugschacht 7 entlüftet bzw. die entleert wird. Durch den Absaugschacht 8 wird das obere Vakuum VO gebildet. Ferner sind die beispielhaft Griffmulden 31, 32 und 17 für die Robotergreifer dargestellt. Die Griffmulden 31, 32, 17 sind nach oben mittels einer Phase geöffnet, um einen besseren Zugang für den Roboter zu erreichen. In ihrem Bodenbereich weisen sie eine Nut auf, so daß sich der Robotergreifer in den Mulden 31, 32, 17 verspannen kann.

Fig. 8 zeigt dieselbe Situation wie **Fig. 7**, jedoch nunmehr mit aufgesetztem Deckel, wobei zu erkennen ist, daß der obere Filterträger F1 mit der Dichtfläche 35 und einer entsprechenden Dichtung 44 gegen das Oberteil 30 abdichtet. Rechts dargestellt sind die übereinander gestellten Filterträger F1, F2, wobei über die Größe der Abstandshülse 60 der obere Vakumbereich VO definiert wird.

Das Einsetzen der in der **Fig. 1** schematisch dargestellten Filterträger F1, F2 in die Vakuumkammer V und ihre Komponenten entsprechend den **Fig. 2** bis 6, wird nachfolgend unter Bezug auf die **Fig. 7** und 8 erklärt werden.

Werden die Filterträger F1, F2 aus einem Pipettierroboter PR (Fig. 10) in die Vakuumkammer V mittels eines Greifroboters GR (Fig. 10) eingebracht, so können sich auf dem Verfahrweg geringfügige Lageänderungen ergeben. Würden diese Veränderungen nicht behoben, so käme es in einem sensorisch nicht rückgekoppelten Robotersystem, wie es in diesem Fall vorliegt, rasch zur mechanischen Katastrophe. Aus diesem Grunde wird durch die Vakuumkammer V selbst beim Einführen der Filterträger F1, F2 eine mechanische Zwangsjustierung vorgenommen.

Wird das die Flüssigkeit auffangende Filter F2 (unteres Filter) in die Vakuumkammer V eingestellt, so sind es die Führungslaschen 9 bis 13, die den ersten mechanischen Kontakt zum Unterteil 1 der Vakuumkammer V herstellen. Weil der Filterträger F2 während des Verfahrweges von der Pipettierstation PR zur Vakuumkammer V geringfügige Lageänderungen erfahren kann, dienen diese Führungslaschen 9, 10, 11, 12, 13 dazu, den Filterträger F2 während des Einführens in das Unterteil 1 der Kammer V in die erforderliche Lage zurückzubringen. Der in dieser bevorzugten Ausführungsform verwendete CRS 465 (Greifroboter GR) kann vorgegebene Koordinaten nur über eine im C500-Controller berechnete "Spline-Funktion" einfahren. Deswegen ist es notwendig, stets hinsichtlich der Spline-Funktion entspannte Bewegungsabläufe vorzugeben. Somit nähert sich der Robotergreifarm mit dem Filterträger F2 zunächst mit mittelhoher Geschwindigkeit einer Annäherungsposition ca. 1 cm senkrecht über dem endgültigen Kontaktspunkt mit den Führungslaschen 9–13. Beim langsam Absenken des Filterträgers F2 wird der Kontakt an den Phasen 50, 51 der Führungslaschen 9–13 erfolgen, wobei Fehlstellungen zunächst an den 30-Grad-Phasen 50, später an den 2 Grad-Neigungen 51 der senkrecht zur Bewegungsrichtung ausgerichteten Flächen über die erzwungene Abwärtsbewegung des Greifarms ausgeglichen werden. Nach ca. 1 cm ist der Filterträger F2 von den fünf, im 2 Grad-Winkel sich nach unten verjüngenden Justierflächen derart flankiert, daß Fehlstellungen im horizontalen Bereich relativ zum Unterteil 1 der Vakuumkammer 1 in jedem Fall ausgeglichen sind. Nun erst erfolgt die vertikale Justierung des Filterträgers F2 an den Zentriertschächten 22, 23 der Kammer. An den äußeren vier Eckschlöten des Filterträgers sind Abstandshülsen 60 angebracht, die neben ihrer Funktion den oberen Filterträger F1 für das Vakuum im oberen Bereich der Kammer V zugänglich zu machen, hier ihre zweite Funktion wahrnehmen, nämlich die vertikale Korrektur von Fehlstellungen des unteren Filterträgers F2. Hierzu befinden sich ebenfalls 30-Grad-Phasen 62 sowohl an den Abstandshülsen 60 als auch an den Zentriertschächten 22, 23 des Vakuumkammerunterteils 1. Nach ca. 2 mm Verfahrstrecke ist der Filterträger F2 durch die Abwärtsbewegung des Roboterarms in korrekter Lage innerhalb des Unterteils 1 der Vakuumkammer V positioniert. Das Greifwerkzeug fährt dabei in die Griffmulden 17, 18, 19 des Unterteils 1 ein. Etwa 1 mm oberhalb des endgültigen Aufsetzpunktes wird der Filterträger F2 vom Greifer des Roboterarms gelöst und setzt somit auf die auf den Sims 5 des Unterteils 1 aufgelegte Abdichtung 43 auf.

Wird der obere Filterträger F1 über den Robotergriffarm eingestellt, so wird dessen Zentrierung in ähnlicher Weise über die Führungslaschen 9–13 bewerkstelligt. Die Abstandshülsen 60 richten den oberen Filterträger F1 parallel zum bereits in dem Unterteil 1 befindlichen unteren Träger F2 aus. Falls es dennoch zu einer Fehlstellung des oberen Filterhalters F1 kommen sollte, wird diese durch die besondere Konstruktion des Vakuumkammeroberteils 30 ausgeglichen. Wird der Deckel 30 der Vakuumkammer V aus einer speziellen Parkposition vom Greifer des Greifroboters auf das Vakuumkammerunterteil 1 aufgesetzt, so erfolgt der

erste Kontakt des Deckels 30 an den Führungslaschen 9–13 des Unterteils 1. Diese haben für diesen Zweck neben ihren 30° Innenphasen noch kurze 45° Außenphasen erhalten. Der Deckel 30 nimmt diese in speziellen Aussparungen 37–41 auf. Über die Abwärtsbewegung des Greifers wird der Deckel 30 an den Aussparungen 37–41 ausgerichtet. Nach ca. 0,5 cm ist der Deckel 30 mechanisch so weit an dem Unterteil 1 der Vakuumkammer V ausgerichtet, daß die zweite Funktion des Oberteils 30 ausgerichtet werden kann, nämlich die Korrektur eines eventuell fehlplazierten oberen Filterhalters F1. Zu diesem Zweck ist der Deckel 30 an den entsprechenden Berührungszenen mit 30°-Phasen 34 versehen worden. Die Breite der Phase 34 ergibt sich aus der möglichen Fehlplazierung des Filterhalters F1. Weil die Toleranzen über die Führungslaschen 9–13 maximal 0,5 mm betragen können, ist die Phase 34 am Deckel auf jeder Seite ca. 0,5 mm breit. Dies gewährleistet ausreichende Toleranz in der Aufnahme des Filterträgers F1. Durch die Abwärtsbewegung des Greifers wird der Filterhalter F1 über die Phasen 34 des Deckels 30 in die geeignete Position gezwungen, falls dies notwendig sein sollte.

Die Verdichtung der zusammengesetzten Kammer V erfolgt insgesamt an drei Stellen. Die unterste Zone verdichtet um eine 60 Shore harte Gummiauflage. Die zweite Zone ist die Nahtstelle zwischen dem Unterteil 1 und dem Deckel 30 der Vakuumkammer V. Sie wird aus der Kombination O-Ring 16 (60 Shore) und elastischem (30 Shore) Dichtungsband 42 gebildet. Die dritte Zone dichtet das obere Filter F1 gegen den inneren Deckelbereich ab. Der Deckel 30 verfügt also über zwei Auflageflächen 35, 36, die für die Anbringung des Dichtungsmaterials vorgesehen sind. Sie werden zu diesem Zweck fertigungstechnisch angerauht.

Fig. 9 zeigt das zum Betrieb der Vakuumkammer notwendige Ventilsystem. Ausgehend von einer Öldruckpumpe RD4 wird ein Vakuumschlauch bei einer Y-Verbindung mit zwei elektronischen Ventilen V1, V2 verbunden, die zur kontrollierten Einstellung von zwei Vakumbereichen in der Kammer dienen V, nämlich dem oberen Vakumbereich VO zwischen den zwei Filterträgern F1, F2 und dem unteren Vakumbereich VU zum Absaugen der Flüssigkeit aus dem unteren Filterträger F2. Das Ventil V2, das für den oberen Vakumbereich zuständig ist, wird über einen Vakuumschlauch direkt mit dem entsprechenden Anschluß 8 der Kammer V verbunden. Das andere Ventil V1, das die Evakuierung des Bodenbereichs kontrolliert, ist über einen Vakuumschlauch mit dem Entlüftungsrohr einer Vakuumfalle F verbunden. Die seitliche Olive der Falle F ist mit einer Schlauchverbindung an den Anschluß 7 des unteren Bereichs der Vakuumkammer V angeschlossen. Somit kann über diese Anordnung das Abfallvolumen von ca. 500 ml aus dem System entnommen werden. Zwischen der Vakuumfalle F und dem regelnden Ventil V1 ist durch ein T-Stück ein Entlüftungsventil V3 angeschlossen, das eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des normalen Luftdrucks im unteren Kammerbereich spielt. Dieses Ventil V3 stellt eine Verbindung zum normalen Luftdruck her.

Die drei Proportionalventile V1, V2, V3 verfügen über eine jeweils eigene Ansteuerungselektronik, die von der Steuersoftware über ein Decodiergerät von einem PC gesteuert werden kann. Das Decodiergerät übernimmt ebenfalls die Ansteuerung der Öldruckpumpe RD4, wodurch die Steuersoftware auch dessen Aktivität kontrollieren kann. Die Ventile V1, V2, V3 können einfache Gasventile ohne besondere Beschichtungen sein. Ihr Öffnungs- und Schließverhalten kann über die Ansteuerungselektronik verändert werden. So öffnen sich die beiden Vakuumventile V1, V2 nach Erhalt ihres Ansteuerungssignals linear über einen Zeitraum von 2 Sekunden zur voreingestellten Weite. Diese

verzögerte Öffnung verhindert ein zu raschen Evakuieren der Vakuumkammer durch die angeschlossene Öldruckpumpe RD4. Die Steuersoftware startet zunächst die Öldruckpumpe RD4, welche daraufhin im gesamten Zuleitungsbereich zu den Ventilen V1, V2 einen Unterdruck erzeugt. Nach ca. 5 Sekunden wird von der Steuersoftware, je nach Erfordernis des aktuellen Präparationsschrittes, der Impuls zur Öffnung eines der beiden Ventile V1, V2 gesendet. Würde sich dieses zu rasch öffnen, so könnte der entstehende Impuls das Filtersystem oder die Vakuumkammer V beschädigen. Das Entlüftungsventil V3, das parallel zum unteren Vakumbereich der Kammer V angeschlossen ist, öffnet sich linear über eine Zeitspanne von 0,1 Sekunden auf seine volle Weite. Es wird von der Steuersoftware dann in vorgegebenen Zeitintervallen aktiviert, wenn der obere Bereich der Vakuumkammer V evakuiert werden soll, der untere hingegen normalen Luftdruck aufweisen muß. Dies ist der Präparationsschritt, bei dem Flüssigkeit aus den Schlitzen des oberen Filterträgers F1 in den unteren F2 gesaugt wird. Hier muß ein sich einschleichender Unterdruck möglichst rasch und effektiv aus dem System genommen werden. Weil damit zu rechnen ist, daß der Druckunterschied in diesem Fall klein ist, wird das Ventil V3 rasch auf seine volle Weite geöffnet bzw. geschlossen. Ein sich eventuell aufbauender Unterdruck im Bodenbereich der Kammer V wird durch die häufige Entlüftung auf diese Weise vernachlässigbar klein gehalten.

Während der Plasmidpräparation fällt ein Abfallvolumen von ca. 500 ml an, das aus dem unteren Bereich der Kammer V abgeführt werden muß. Der Abfall besteht aus den zur Präparation notwendigen Chemikalien und den Zellresten der Bakterien. Die Flüssigkeit ist also sowohl von ihrer chemischen als auch von ihrer biologischen Beschaffenheit nicht unbedenklich, so daß diese in einem entsprechend gesicherten Behältnis zwischengelagert werden muß, um nach Abschluß der Präparationsarbeiten kontrolliert entsorgt werden zu können. Daher wurde die Vakuumkammer V im unteren Kammerbereich mit einer Ansaugstelle 7 versehen, die über ein Ableitungssystem an die Vakuumfalle VF angeschlossen ist. Das während der Präparation im unteren Bereich anliegende Vakuum sorgt dafür, daß anfallende Flüssigkeit des unteren Filterträgers F2 sofort in die Vakuumfalle VF abgesaugt wird, die gleichzeitig als Zwischenlager fungiert. Das für das untere Vakuum verantwortliche Steuerungsventil V1 ist aus Kostengründen mit einem Messingverschluß ohne besondere Schutzauflagen ausgestattet. Weil der Aggressivität der Präparationsflüssigkeiten wird dieses Steuerungsventil V1 vor die Vakuumfalle VF gesetzt. Somit ist es auch möglich, eine Vakuumfalle VF aus kostengünstigem Material (Preßglas) zu wählen. Zur Erzeugung des Vakuums wurde eine Öldruckpumpe (Modell RD4, Fa. Vakubrand) mit einem Saugvermögen von 4,3 m³/h eingesetzt. Wird diese Öldruckpumpe aktiviert, dann baut sich das Vakuum vor dem Ventil V1 und nicht in der Vakuumfalle VF auf, die sich bis zur Öffnung des über die elektronische Ansteuerung geregelten Ventils V1 unter normalem Luftdruck befindet. Diese Ansteuerung ist dabei so ausgelegt, daß sich das Ventil V1 über den Zeitraum von 1 Sekunde proportional öffnet, wodurch sich das Vakuum nicht so schnell in der Falle VF aufbaut. Die Vakuumbelastung für diese Falle VF besteht also nur während der Zeit, in der die Präparationsflüssigkeiten durch die Filtermaterialien bewegt werden. Weil in dieser Zeit der schwächste Punkt des Systems die 0,7 mm dicke Plastikschale des Filterträgers F1 ist, der direkt an den normalen Luftdruck angeschlossen ist, besteht während des gesamten Präparationsvorganges keine Gefahr der Implosion für die Vakuumfalle. Selbst wenn eine Verstopfung des Filtermaterials in allen Schlitzen des Filter-

trägers F1, F2 stattfinden sollte, ist die Vakuumkammer V so konstruiert, daß der untere Dichtungsgummi 43 als Sicherheitsventil fungiert. Der Dichtungsgummi 43 wird aus seiner seitlichen Phase in die Kammer V gezogen und das Vakuum reißt über die auf diese Weise entstandene Öffnung zum normalen Luftdruck hin ab. Somit ist auch eine Zerstörung des Filterträgers F2 ausgeschlossen. Um die abzusaugende Flüssigkeit möglichst rasch aus dem unteren Kammerbereich zu entfernen, wurde die Absaugöffnung 7 direkt am Boden der Kammer V angebracht. Diese ist über eine Bohrung direkt mit dem Absauganschluß 7 verbunden.

Um geringfügige Materialtoleranzen der Filter F1, F2 ausgleichen zu können und ein sicheres Schließen der Vakuumkammer V zu erreichen, weisen die Materialien der drei Dichtungen die folgenden Eigenschaften auf:

Das Dichtungsmaterial des unteren Kammerteils 1 muß ein Material mittlerer Steifigkeit sein, im vorliegenden Falle beträgt die Härte 60 Shore. Dies gewährleistet, daß bei der zyklischen Vernichtung des sich einschleichenden Vakuums aus den oberen Kammerbereichen die Verdichtung des oberen Filterträgers F1 gegen den Deckel 30 nicht gelöst wird.

Das Dichtungsmaterial des Deckels 30 muß sehr weich und elastisch sein (20 Shore). Dies gewährleistet eine ausreichende Verdichtung des Deckels 30 gegen den oberen Filterträger F1 sowie gegen den O-Ring 16 der unteren Kammerhälfte 1. Durch seine sehr elastische Eigenschaft ist auch ein Ausgleich von Fertigungstoleranzen des Filterträgers F1 möglich. Die Fertigungstoleranzen der Filterträger F1, F2 wirken zweifach: zum einen ist die Auflagehöhe des unteren Filterträgers F2 betroffen, zum anderen auch die Abdichtung des oberen Filterträgers F1 gegen den Deckel 30.

Der O-Ring 16 des Unterteils 1 dichtet die Kammer V gegen das sehr weiche Dichtungsmaterial 42 des Deckels 30 ab. Der O-Ring 16 hat dabei einen Durchmesser von 2 mm. Durch seine kleine Auflagefläche ist somit ein wesentlich geringerer Anpreßdruck des Deckels 30 gegen den unteren Teil 1 der Vakuumkammer V notwendig, um eine ausreichende Verdichtung zu erreichen. So reicht das Gewicht des Deckels 30 zusammen mit dem sich im Inneren der Kammer V aufbauenden Vakuum aus, um den Deckel 30 mit dem von ihm eingeschlossenen Filterträger F1, F2 dicht zu schließen. Dieser Punkt ist für eine unbeaufsichtigte Präparation durch ein Robotersystem sehr wichtig, weil ein sich nicht ordnungsgemäß aufbauendes Vakuum eine Zerstörung der gesamten Plasmidpräparation bedingt.

Ferner muß auf ein gezieltes Absaugen der Flüssigkeit aus den oberen Filterelementen 83 in den darunter angebrachten Filterträgern bzw. Auffangbehälter F2 gelegt werden. Die Flüssigkeit muß in diesem unteren Filterträger F2 liegenbleiben, ohne sogleich weiter in den Bodenbereich der Kammer V durchgesaugt zu werden. Wenn sich das Vakuum im oberen Bereich der Kammer V bildet, dann wird zu dem Zeitpunkt, zu dem noch keine Flüssigkeit in dem unteren Filterträger F2 getropft ist, eine geringe Menge Gas durch die unbenetzten Filterträger F2 nach oben steigen. Somit bildet sich ein geringfügiges Vakuum im unteren Bereich der Kammer V. Nachdem nun alle Flüssigkeit aus dem oberen Filterträger F1 in den unteren gewechselt ist, wird sich im Deckelbereich der Vakuumkammer V normaler Atmosphärendruck einstellen. Dadurch wird der sich zu Beginn im Bodenbereich der Kammer V gebildete Unterdruck einen Teil der sich nun in dem unteren Filterträger F2 befindlichen Flüssigkeit auf den Boden der Kammer V durchsaugen. Um diesen Effekt zu vermeiden, wird das Entlüftungsventil V3 durch die Softwareansteuerung in Intervallen geöffnet. Zu Beginn des Entlüftungsprozesses erfolgt nach jeder Sekunde, nach ca. 10 Sekunden jeweils pro verstrichenen 5 Se-

kunden, eine Vollöffnung des Entlüftungsventils V3. Die Öffnungsgeschwindigkeit des Ventils V3 ist dabei maximal. Diese zyklische Entlüftung des unteren Vakumbereichs VU wird, während der obere Vakumbereich VO an das Vakuum angeschlossen ist, aus Sicherheitsgründen ständig beibehalten. Bei unüberwachten Roboterpräparationen könnte eine Undichtigkeit im unteren Bereich der Kammer V zu einem ständigen Aufbau eines Unterdrucks führen. Durch die zyklische Ventilation des unteren Bereichs der Kammer V kann dies ausgeglichen werden.

Fig. 10 zeigt eine Schemadarstellung des Gesamtsystems zur automatischen Plasmidpräparation. Das System umfaßt einen Pipettierroboter PR (BIOMEK 2000), das Vakumsystem mit der Pumpe RD4, den Ventilen V1, V2, V3 der Vakuumfalle VF und der Vakuumkammer V, einem Greifroboter GR (CRS 465), eine PCR-Maschine PCR (PTC 225, MJ Research), ein festes Regalsystem RS für kritische Laborware (Hochsalzpuffer, Säuren etc.) und ein Karussell K (a. n. ein drehbares Regalsystem für Labware). Ferner umfaßt das System noch einen Trockner T für die Filterträger F1, F2. Zur Steuerung des Greifroboters GR ist dieser an eine Risc-Workstation RS (C500) angeschlossen, die über eine serielle Schnittstelle S (vorzugsweise eine RS 232 Schnittstelle) von einem PC-Steuerungsrechner PC angesprochen wird, der den gesamten automatischen Plasmidpräparationsablauf überwacht. Die Anordnung des Greifroboters GR ist derart, daß er Zugang zu den auf dem Pipettierroboter PR angeordneten Filterträgern F1, F2, der Vakuumkammer V bestehend aus Unterteil 1 und Deckel 30, den beiden Regalsystemen RS, K, dem Trockner T und der PCR-Maschine PCR hat. Dabei hat der Deckel 30 der Vakuumkammer V einen eigenen Ablageplatz. Der Präparationsablauf des Greifroboters GR, der mit einer dreifingrigen Hand ausgerüstet ist, ist entsprechend dem Qiagenprotokoll wie folgt: der Greifroboter GR entnimmt dem Karussell K einen Filterträger F2 für das untere Filter und setzt dieses in das Unterteil 1 der Vakuumkammer V ein. Anschließend entnimmt er dem Pipettierroboter PR den oberen Filterträger F1, dessen Schleife (Filterelemente 83) von dem Pipettierroboter PR mit der entsprechenden Präparationsflüssigkeit pipettiert wurden, und setzt diesen auf das untere Filter F2 in das Unterteil 1 der Vakuumkammer V. Anschließend wird der Vakuumkammerdeckel 30 aufgesetzt und die Filtrierung, d. h. der Transport der Flüssigkeit durch die Filterträger F1, F2, wird durch Anlegen eines entsprechenden Vakuums an den oberen bzw. unteren Vakumbereich durchgeführt. Nach Beendigung der Filtrierung wird die Vakuumkammer V durch den Greifroboter GR automatisch geöffnet und der oberste Filter F1 entfernt und entsorgt. Der untere Filterträger F2 wird wieder in den Pipettierroboter PR verbracht und mit der entsprechenden Präparationsflüssigkeit gefüllt, während der Greifroboter GR aus dem Karussell K einen weiteren, als unteren Filterträger zu verwendeten Filterträger F2 für den nächsten Filtrationsschritt entnimmt und diesen als unteren Filterträger F2 in das Unterteil 1 der Vakuumkammer V einbringt. Anschließend wird aus dem Pipettierroboter PR der pipettierte Filterträger entnommen und als oberer Filter F1 in das Unterteil 1 eingesetzt und die Vakuumkammer V verschlossen. Nach erfolgten Flüssigkeitstransport wird die Kammer V wieder geöffnet, der obere Filterträger F1 entsorgt und der untere Filterträger F2 wieder in den Pipettierroboter PR zum Einbringen der nächsten Präparationsflüssigkeit verbracht. Handelt es sich bei dem nächsten Filtrationsschritt um den letzten, so entnimmt der Greifroboter GR dem Karussell nunmehr einen Auffangträger und setzt ihn als unteren Träger F2 in das Unterteil 1 ein. Anschließend wird der entsprechende pipettierte Filterträger dem Pipettierroboter PR entnommen und als oberer Filter-

träger F1 in das Unterteil 1 eingebracht und die Vakuumkammer V wird verschlossen. In dem nunmehrigen dritten Filterschritt wird die reine DNA enthaltende Präparationsflüssigkeit in den Auffangträger F2 gesaugt, und die Filtrierung nach dem Qiagen-Protokoll ist fertig.

Zur Steuerung des Gesamtsystems bedarf es für jede der Einheiten eine spezielle Ansteuerung und Regelung. Mit anderen Worten, für jedes der Module des Gesamtsystems ist eine eigene Ansteuerungssoftware vorgesehen. Alle Ansteuerungsvorgänge sind innerhalb dieser Steuerungssoftware geregelt und bedürfen keiner Rückkopplung zum aufrufenden System. Als Betriebssystem wird vorzugsweise Windows-NT gewählt, da es über ein stabiles präemptives Multitasking verfügt, das auch phasenparallele Unterprogramme unterstützt, und es möglich ist Verfahren der Interprozeßkommunikation einzusetzen.

Fig. 11 schließlich zeigt das Blockschaltbild der Steuerung des Moduls 70 der Vakuumkammer V. Das Modul 70 umfaßt die Untermodule "Ansteuerung Vakuumkammer" 71, "Elektronik" 72, "Ventile" 73 und "Ölpumpe RD4" 74, wobei das Modul 70 von dem Modul "Aufrufender Roboter" 75 angesteuert wird, d. h. die Ansteuerung der Vakuumkammer startet. In dem Modul 70 werden drei Ventile V1, V2, V3 und eine Oldrucksaugpumpe RD4 von einem Computer PC angesteuert. Die verwendeten Ventile V1, V2, V3 sind im interaktiven Zustand geschlossen, da deren Schieber im Inneren des Ventils durch eine Feder gegen die Ventilabdichtung gedrückt wird.

30

Bezugszeichenliste

- 1 Unterteil
- 2 Innenraum Unterteil
- 3 unterer Teil
- 4 oberer Teil
- 5 Sims
- 6 Nut
- 7 Absaugschacht
- 8 Absaugschacht
- 9 Führungslasche
- 10 Führungslasche
- 11 Führungslasche
- 12 Führungslasche
- 13 Führungslasche
- 14 Dichtfläche Unterteil
- 15 Nut
- 16 Dichtgummi
- 17 Griffmulde
- 18 Griffmulde
- 19 Griffmulde
- 20 angephaste Führungskante Unterteil
- 21 Bohrung
- 22 Zentrierschacht
- 23 Zentrierschacht
- 30 Deckel
- 31 Griffmulde
- 32 Griffmulde
- 33 Griffmulde
- 34 angephaste Führungskante Deckel
- 35 Sims Deckel (Dichtfläche oberer Filterträger)
- 36 Dichtfläche Deckel/Unterteil
- 37 Aussparung
- 38 Aussparung
- 39 Aussparung
- 40 Aussparung
- 41 Aussparung
- 42 Dichtung Deckel/Unterteil
- 43 Dichtung unterer Träger

44 Dichtung oberer Träger	
45 Bolzen	
50 Phase Führungslasche	
51 Phase Führungslasche	
60 Abstandshülse	5
61 Spalt	
62 angephaste Stirnkante	
70 Modul "Vakuumkammer"	
71 Modul "Ansteuerung Vakuumkammer"	10
72 Modul "Elektronik"	
73 Modul "Ventile"	
74 Modul "RD4 Ölpumpe"	
75 Modul "Aufrufender Roboter"	
80 Auslaßspitze	15
81 Filterelement	
82 Auslaßspitze	
83 Filterelement	
84 Seitenwand Filterträger	
v Vakuumkammer	
VO oberer Vakumbereich	20
VU VU unterer Vakumbereich	
F1 oberer Filterträger	
F2 unterer Filterträger	
V1 Ventil	25
V2 Ventil	
V3 Ventil	
VF Vakuumfalle	
RD4 Ölpumpe	
PR Pipettierroboter	30
RS Regalsystem	
K Karussell	
GR Greifroboter	
RW Risc-Workstation	
T Trocknereinheit	
S Schnittstelle	35
PC Steuerungsrechner	

Patentansprüche

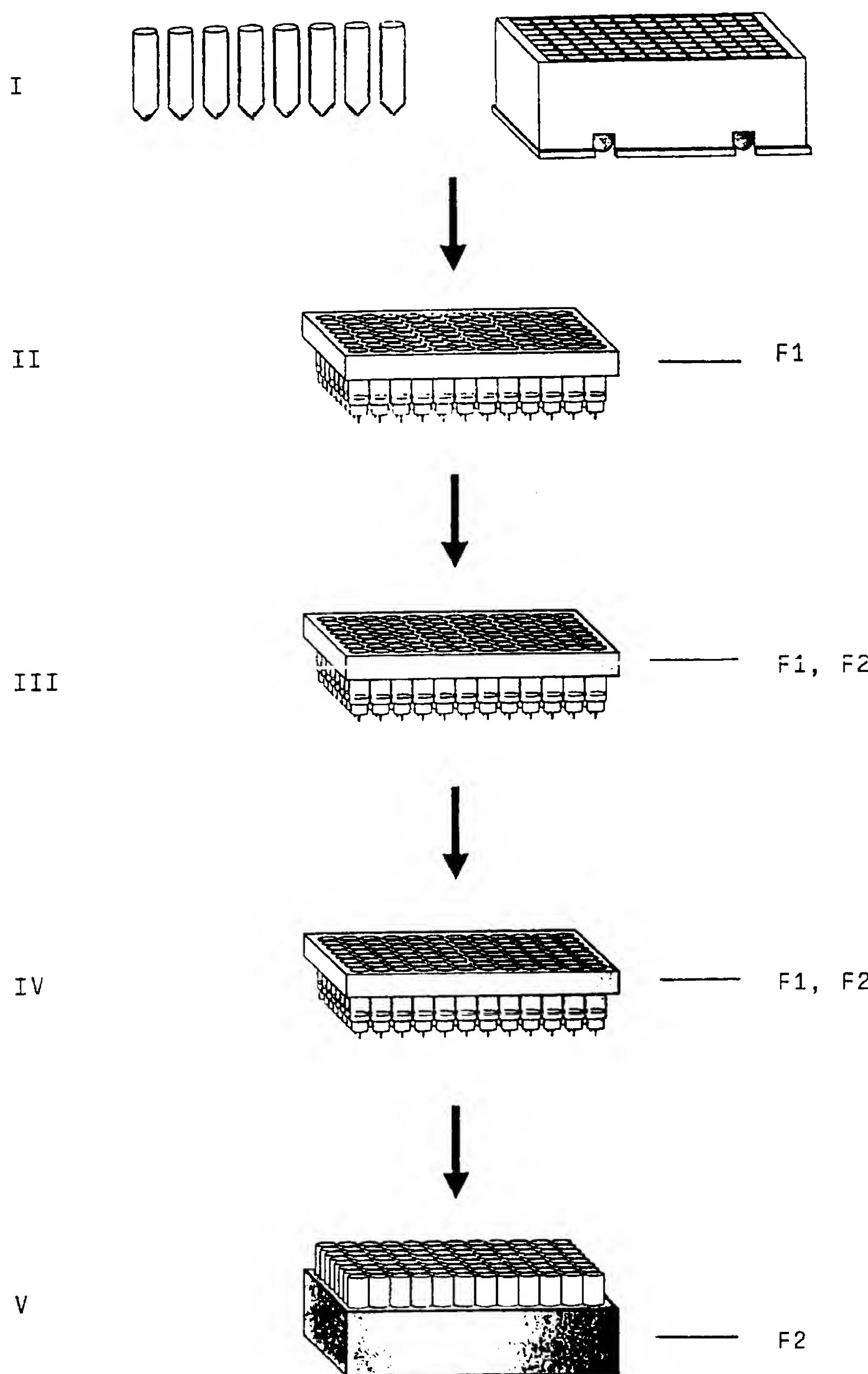
1. Vakuumkammer (V) zum gerichteten Transport einer Substanz, dadurch gekennzeichnet, daß in der Vakuumkammer (V) mindestens ein permeables Mittel (F1) und ein Auffangmittel (F2) angeordnet sind, und die Vakuumkammer (V) mindestens zwei unabhängig voneinander einstellbare Vakumbereiche (VO, VU) aufweist, wobei der obere Vakumbereich (VO) durch den Raum zwischen dem mindestens einen permeablen Mittel (F1) und dem Auffangmittel (F2) definiert wird, während der untere Vakumbereich (VU) durch den Raum zwischen dem Auffangmittel (F2) und dem Boden der Vakuumkammer definiert wird, und in dem oberen und dem unteren Vakumbereich (VO, VU) unabhängig voneinander ein Vakuum erzeugt werden kann, so daß die Substanz durch das mindestens eine permeable Mittel (F1) in das Auffangmittel (F2) transportiert wird.
2. Vakuumkammer nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die zu transportierende Substanz ein Fluid, insbesondere eine Flüssigkeit, ist.
3. Vakuumkammer nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Vakuumkammer (V) genau zwei Vakumbereiche (VO, VU) aufweist.
4. Vakuumkammer nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das permeable Mittel (F1) durch einen Filterträger gebildet werden.
5. Vakuumkammer nach einem der vorangegangenen

- Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Auffangmittel (F2) ebenfalls permeabel ist und durch einen Filterträger gebildet wird.
6. Vakuumkammer nach einem der vorangegangenen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Vakuumkammer (V) einen Deckel (30) und ein Unterteil (1) aufweist.
 7. Vakuumkammer nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Unterteil (1) der Vakuumkammer (V) einen Sims (5) zum Tragen des unten angeordneten Auffangmittels (F2) aufweist.
 8. Vakuumkammer nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß in den Seitenwänden des Unterteils (1) Aussparungen (17, 18, 19) für den Greifer eines Roboters (GR) vorgesehen sind.
 9. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Unterteil (1) der Vakuumkammer (V) Führungslaschen (9, 10, 11, 12, 13) mit korrigierenden Phasen (50, 51) für das Einsetzen des permeablen Mittels (F1) und des Auffangmittels (F2) in das Unterteil (1) aufweist.
 10. Vakuumkammer nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Führungslaschen (9, 10, 11, 12, 13) zwei unterschiedliche Phasenwinkel (50, 51) aufweisen.
 11. Vakuumkammer nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Phasenwinkel (50) ca. 30° und der zweite Phasenwinkel (51) ca. 2° beträgt.
 12. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Unterteil (1) eine mit einer Phase versehene umlaufende Führungskante (20) aufweist, mit der das Auffangmittel (F2) und das permeable Mittel (F1) beim Einsetzen in das Unterteil (1) der Vakuumkammer (V) in Berührung kommen.
 13. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Deckel (30) der Vakuumkammer (V) eine mit einer Phase versehene Führungskante (34) aufweist, die mit dem oberhalb des Auffangmittels (F2) angeordneten permeablen Mittel (F1) beim Aufsetzen des Deckels (30) auf das Unterteil (1) in Berührung kommt.
 14. Vakuumkammer nach Anspruch 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, daß der Phasenwinkel der Führungskante (34) 30° beträgt.
 15. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Deckel (30) im Wandbereich Aussparungen (31, 32, 33) für den Greifer eines Roboters (GR) aufweist.
 16. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6–15, dadurch gekennzeichnet, daß der Deckel (30) eine Auflagefläche (35) zum Abdichten des oberen Filterträgers (F1) aufweist.
 17. Vakuumkammer nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Verdichtungsmaterial für den oberen Filterträger (F1) eine Härte von 20 Shore aufweist.
 18. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6–17, dadurch gekennzeichnet, daß an der Verbindungsstelle Deckel/Unterteil (30, 1) die Verdichtung aus einer Kombination O-Ring (16) und elastischem Dichtungsband (42) gebildet wird, wobei der O-Ring (16) mit 60 Shore und das Dichtungsband (42) mit 30 Shore dichtet.
 19. Vakuumkammer nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß am unteren Filterträger (F2) über eine 60 Shore harte Dichtung (43) gedichtet wird.
 20. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6–19, dadurch gekennzeichnet, daß der Deckel (30) entspre-

- chende Aufnahmen (37, 38, 39, 40, 41) zum Aufnehmen der Führungslaschen aufweist.
21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6–20, dadurch gekennzeichnet, daß ein Filterträger (F1, F2) eine Anzahl N schlottförmiger Filterelemente aufweisen, die zu einer Filterträger verbunden sind. 5
22. Vorrichtung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß ein Aufnahmemittel (F2) N schlottförmige Aufnahmeelemente aufweist, die zu den Filterelementen (81, 83) korrespondieren und zu einem Aufnahmeträger verbunden sind. 10
23. Vakuumkammer nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß auf den entsprechenden vier Eckschlöten der beiden Filterträger oder des Filterträgers und des Aufnahmeträgers (F1, F2) jeweils eine Abstandshülse (60) aufgebracht ist, die neben ihrer Funktion der Definition des Abstandes zwischen beiden Trägern (F1, F2) die vertikale Korrektur von Fehlstellungen des unteren Trägers (F2) korrigieren, indem sie in Zentrierschächte (22, 23) des Unterteiles (1) der Vakuumkammer (V) eingreifen. 15
24. Vakuumkammer nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß die Abstandshülsen (60) eine zylindrische Form haben, wobei der Zylinder eine durchgehenden Spalt (61) in axialer Richtung aufweist, so daß das Vakuum auf die Eckschlöte einwirken kann. 20
25. Vakuumkammer nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Abstandshülsen (60) an ihren Stirnseiten (62) angephast sind. 25
26. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 23–25, dadurch gekennzeichnet, daß die Länge der Abstandshülsen (60) derart gewählt ist, daß sich die Auslaßspitzen (82) des oberen Filterträgers (F1) innerhalb der Schloste (81) des unteren Trägers (F2) befinden. 30
27. Vakuumkammer nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die Auslaßspitzen (82) des oberen Filterträgers (F1) 1,5 mm sich innerhalb der Schloste (81) des unteren Trägers (F2) befinden. 35
28. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 23–27, dadurch gekennzeichnet, daß die Abstandshülsen (60) aus Plexiglas sind. 40
29. Vakuumkammer nach einem der vorangegangenen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Vakuumkammer (V) aus Plexiglas, Glas, Edelstahl o. ä. entsprechender Stärke gefertigt ist. 45
30. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 1–28, dadurch gekennzeichnet, daß die Vakuumkammer (V) durch ein Spritzgußverfahren oder Fräsenverfahren hergestellt wird. 50
31. Vakuumkammer nach einem der Ansprüche 6–30, dadurch gekennzeichnet, daß das Unterteil (1) der Vakuumkammer (V) einen Absaugschacht (7) für den unteren Vakumbereich (VU) und einen Absaugschacht (8) für den oberen Vakumbereich (VO) aufweist. 55
32. Vakuumsystem mit einer Vakuumkammer (V) nach einem der Ansprüche 1 bis 31, mindestens einer Vakuumpumpe (RD4) und einem elektronisch geregelten Ventil (V1) für den unteren Vakumbereich (VU), einem elektronisch geregelten Ventil (V2) für den oberen Vakumbereich (VO) Kammerbereich und einem Ventil (V3) zur Zerstörung des Schleichvakums im unteren Vakumbereich (VU) und einer zwischen den Ventilen (V1, V2, V3) und dem Anschluß (7) des unteren Vakumbereichs (VU) angeordneten Vakuumfalle (VF) zur Aufnahme des Abfallvolumens. 60
- 65

33. Vakuumsystem nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß jedes Ventil (V1, V2, V3) über eine eigene Ansteuerelektronik verfügt, die von der Kontrollsoftware über ein Decodiergerät von einem PC angesteuert werden kann.
34. Vorrichtung zur automatischen Plasmidpräparation mit einem Vakuumsystem nach einem der Ansprüche 32 oder 33, einem Pipettierroboter (PR) und einem Greifroboter (GR), wobei der Greifroboter (GR) die Filterträger (F1, F2) nach der Pipettierung durch den Pipettierroboter (PR) in die Vakuumkammer (V) einsetzt und den Deckel (30) schließt sowie nach Filtrierung die Kammer (V) öffnet und die Filterträger (F1, F2) entnimmt und der Weiterverarbeitung zuführt.
35. Vorrichtung nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Vorrichtung von einem Rechner (PC) gesteuert wird.
36. Vorrichtung nach Anspruch 34 oder 35, dadurch gekennzeichnet, daß die Vorrichtung weiter einen Trocknereinheit (T) zum Trocknen der Filter- bzw. Aufnahmeträger (F1, F2) aufweist.

Hierzu 10 Seite(n) Zeichnungen

FIG. 1

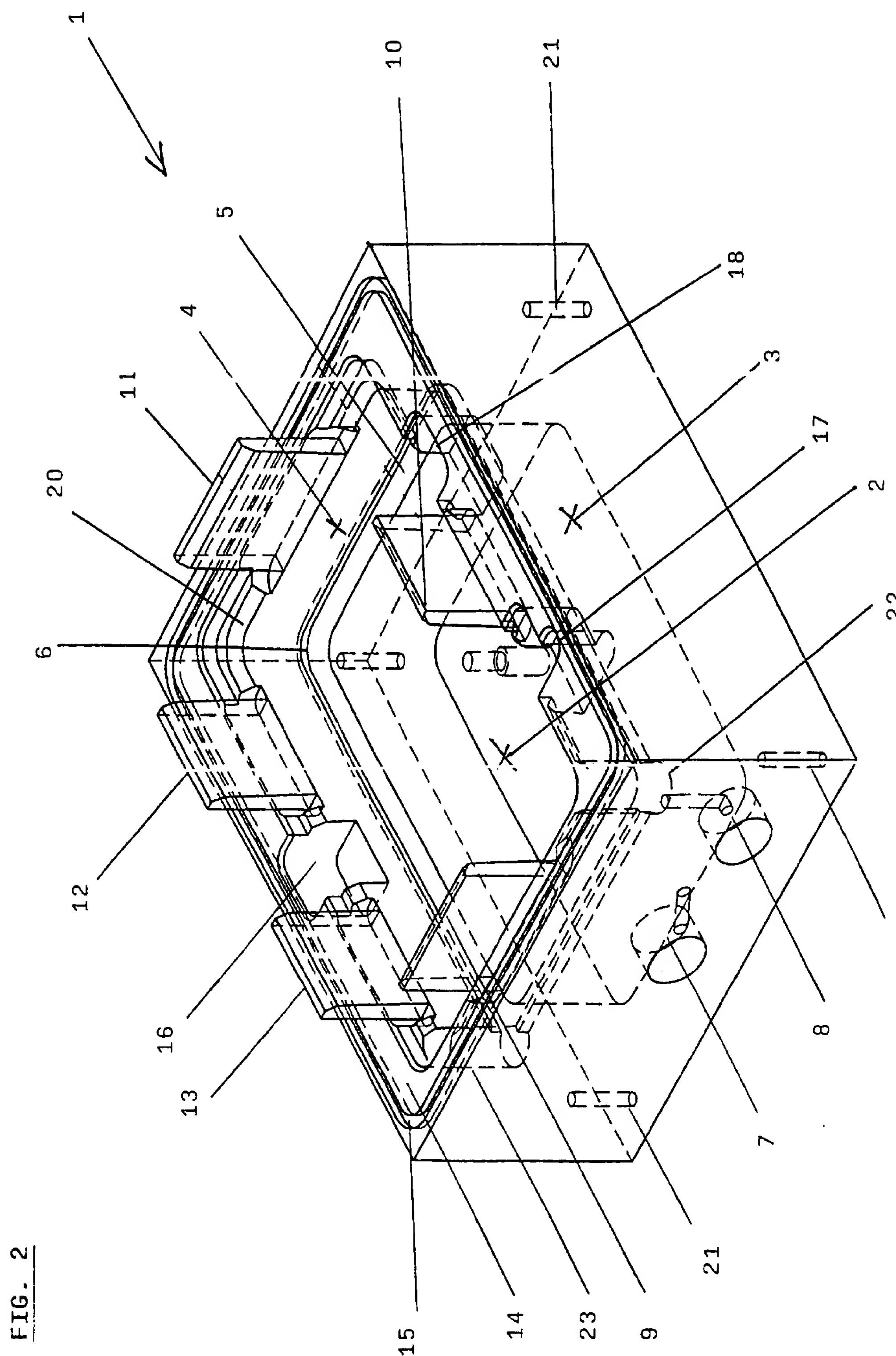


FIG. 2

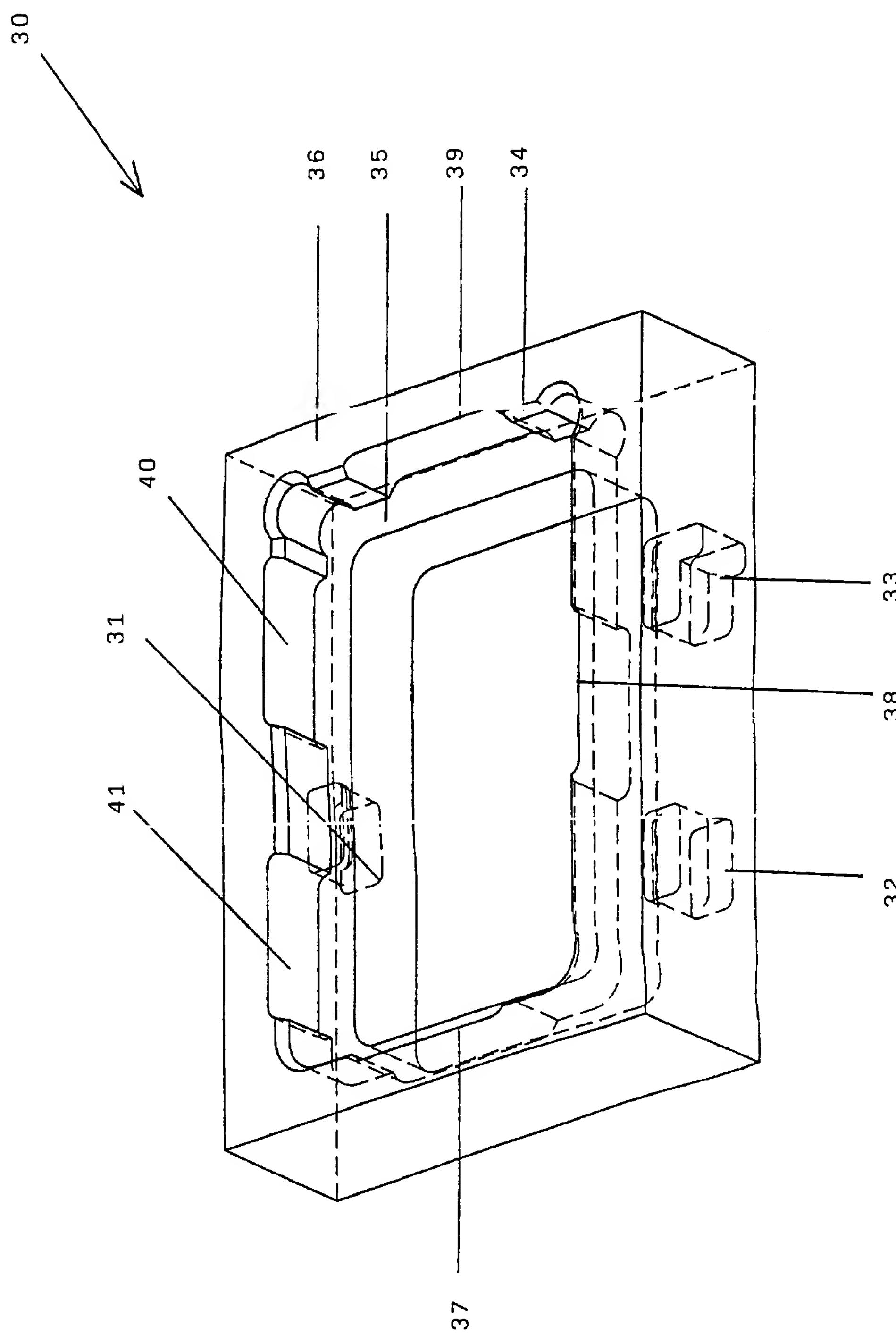


FIG. 3

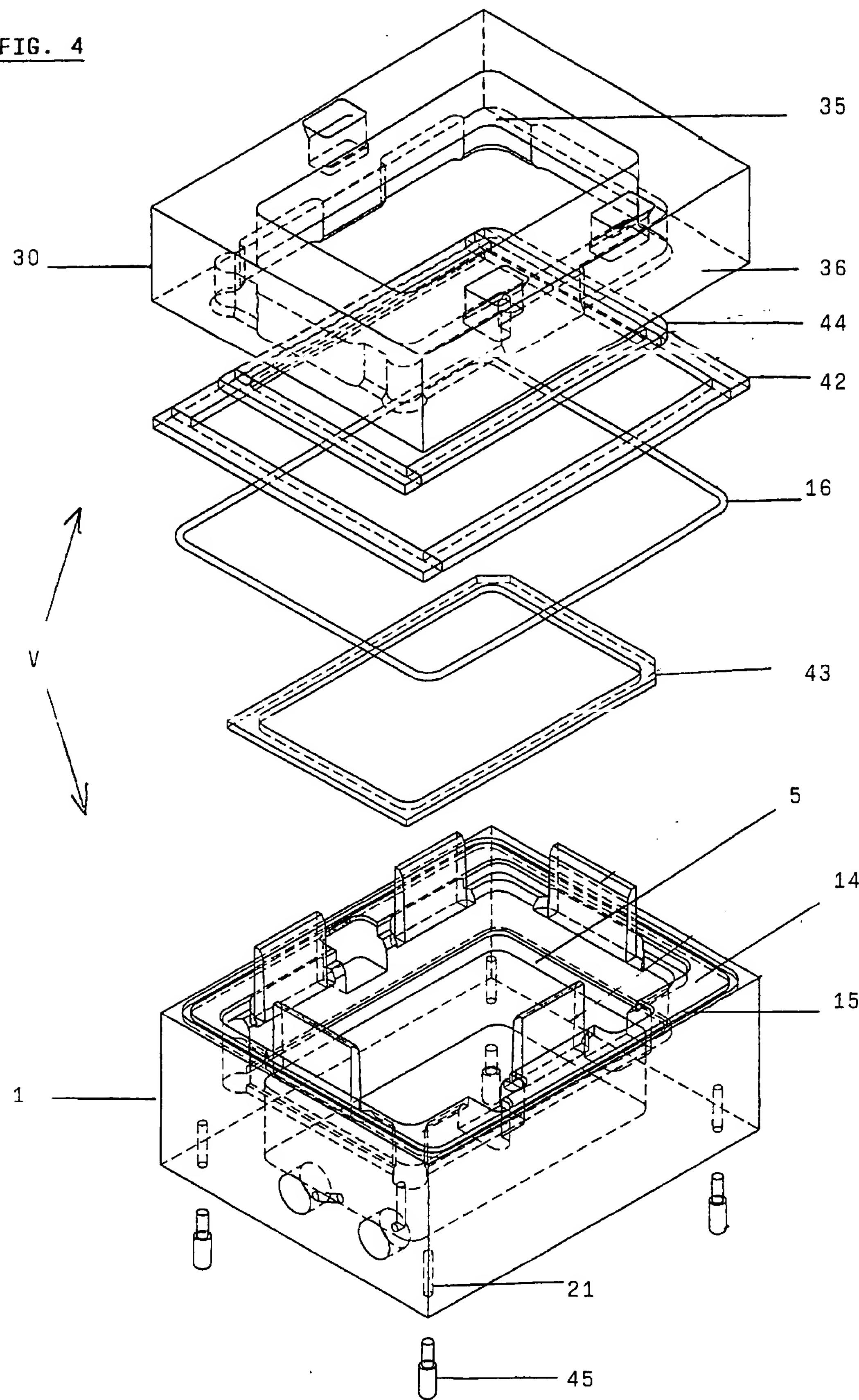
FIG. 4

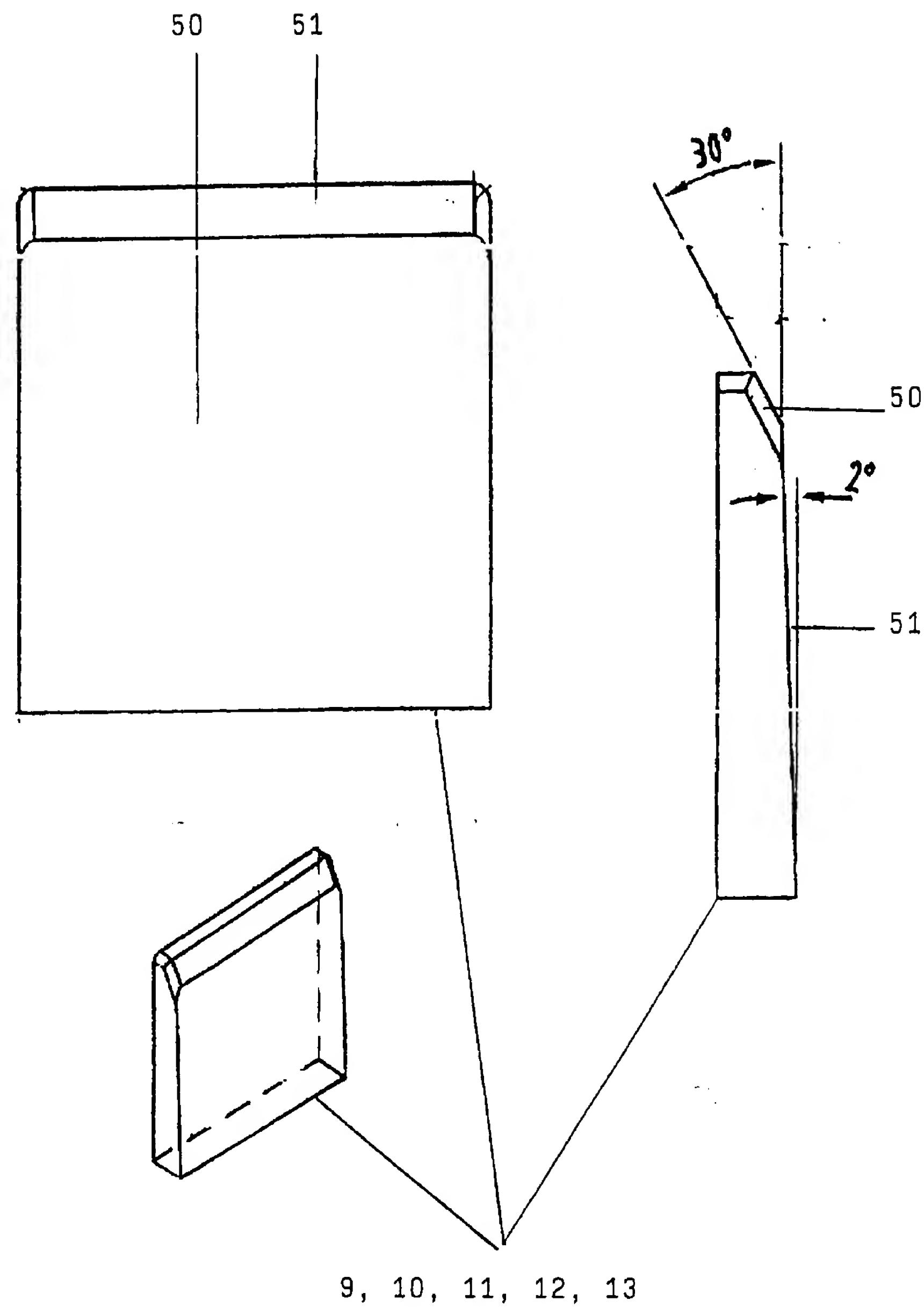
FIG. 5

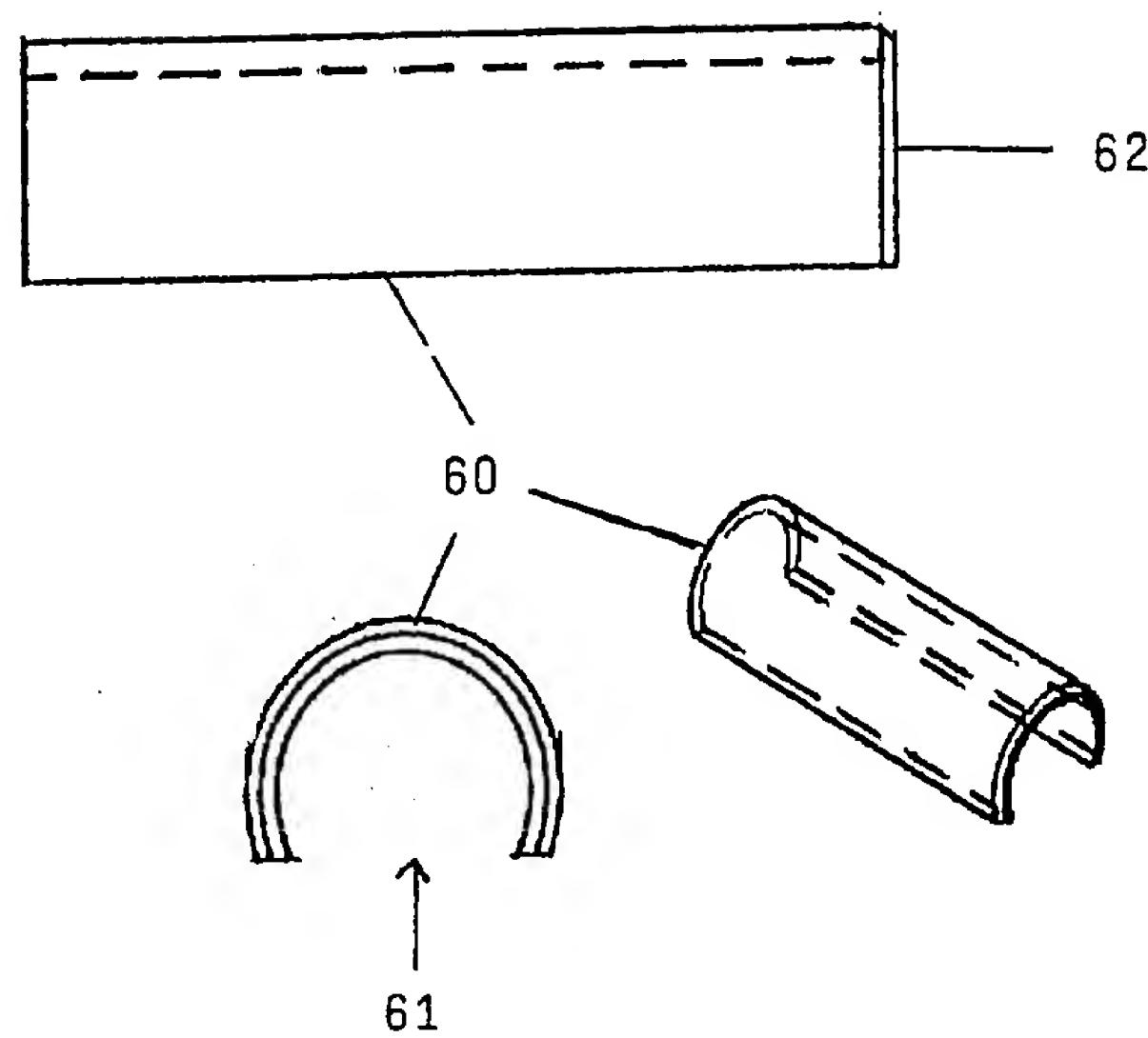
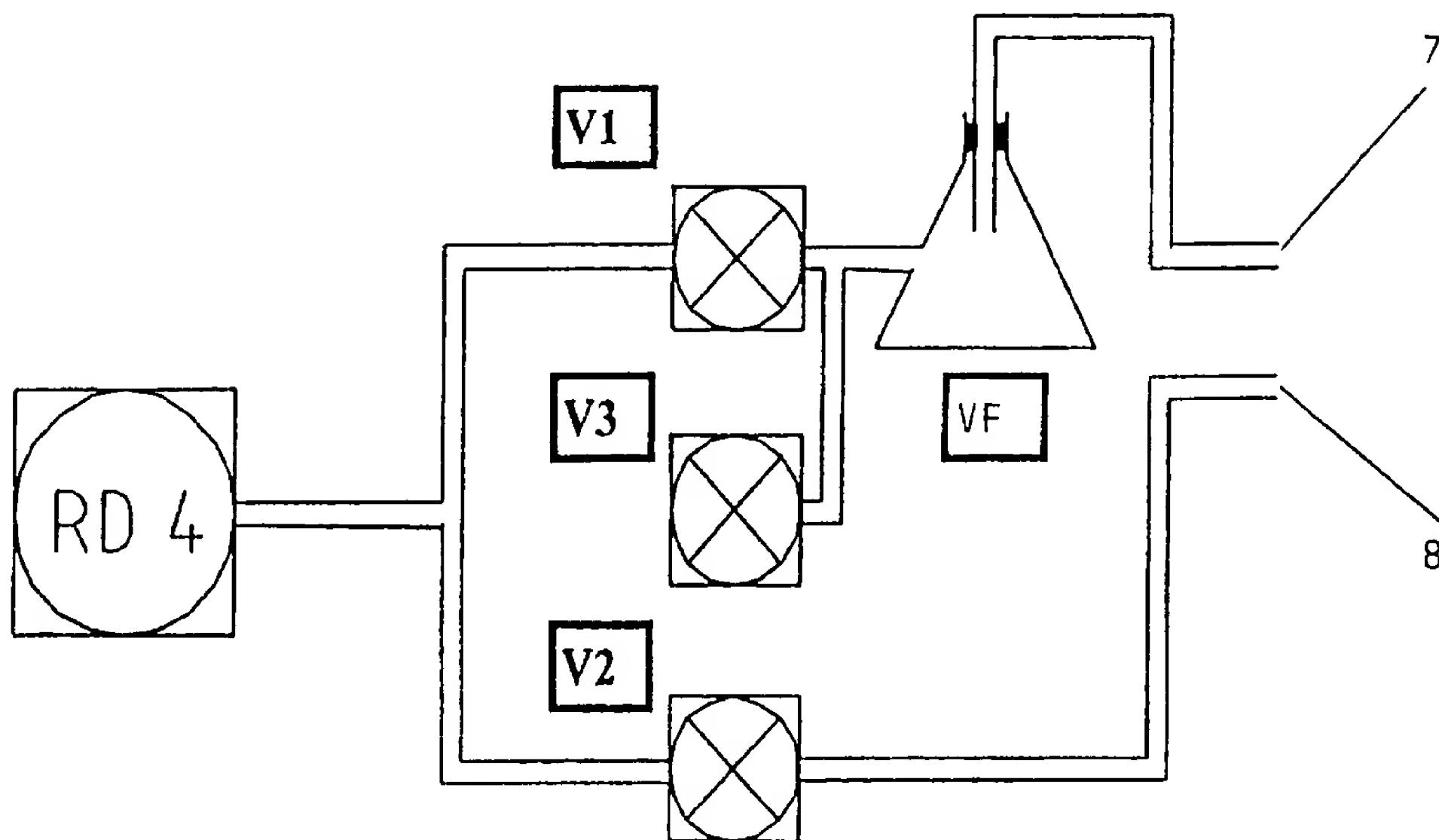
FIG. 6FIG. 9

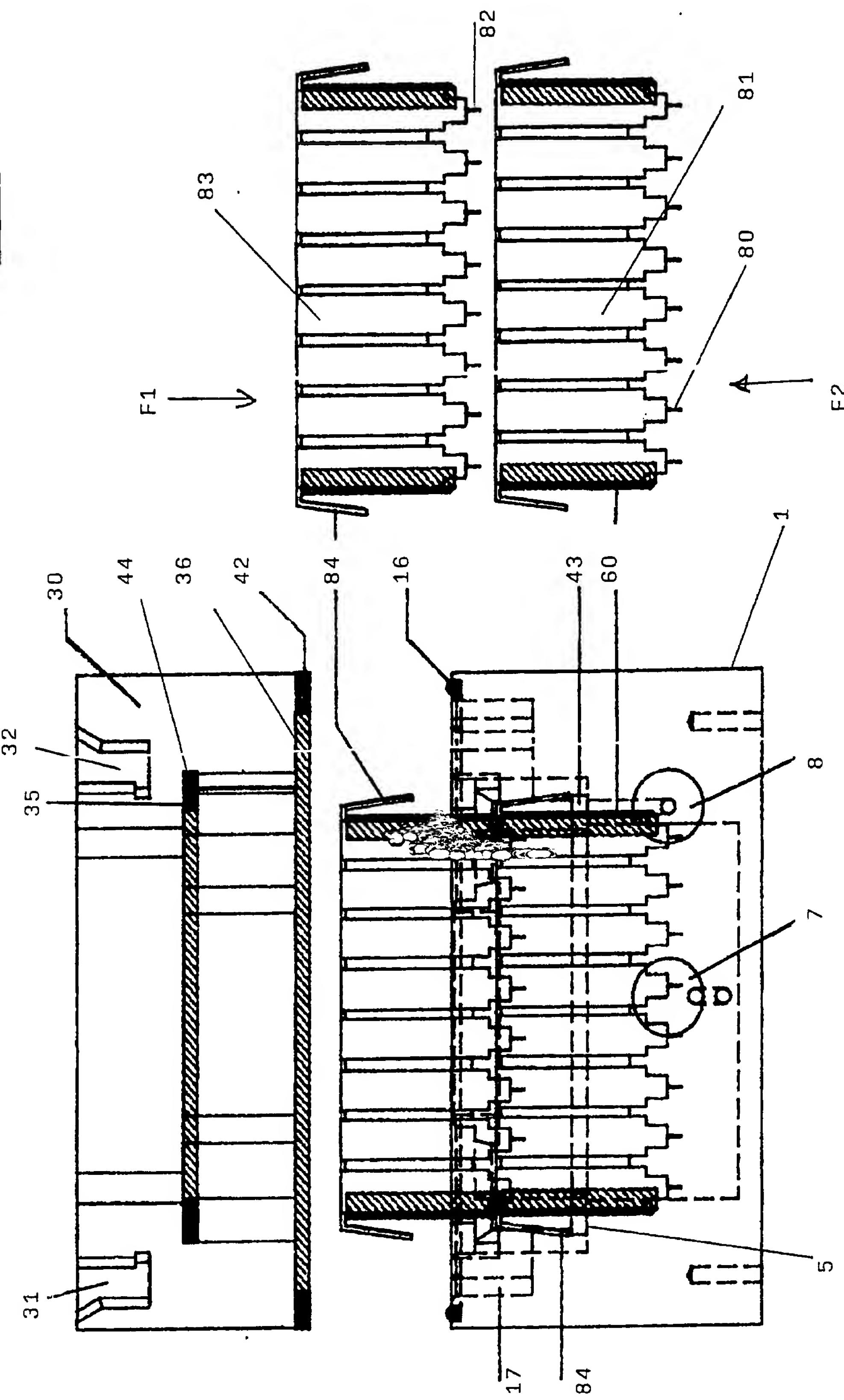
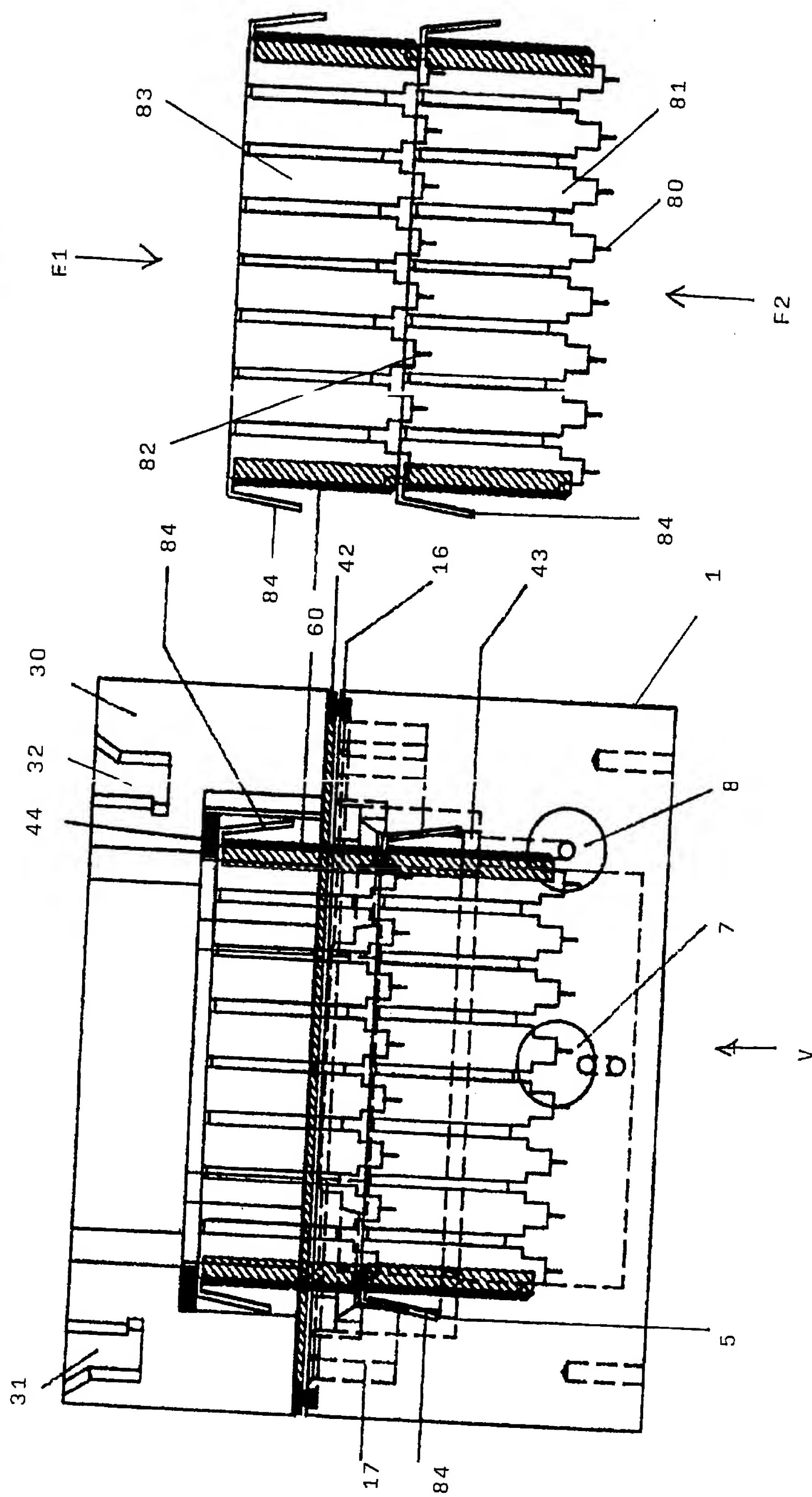
FIG. 7

FIG. 8



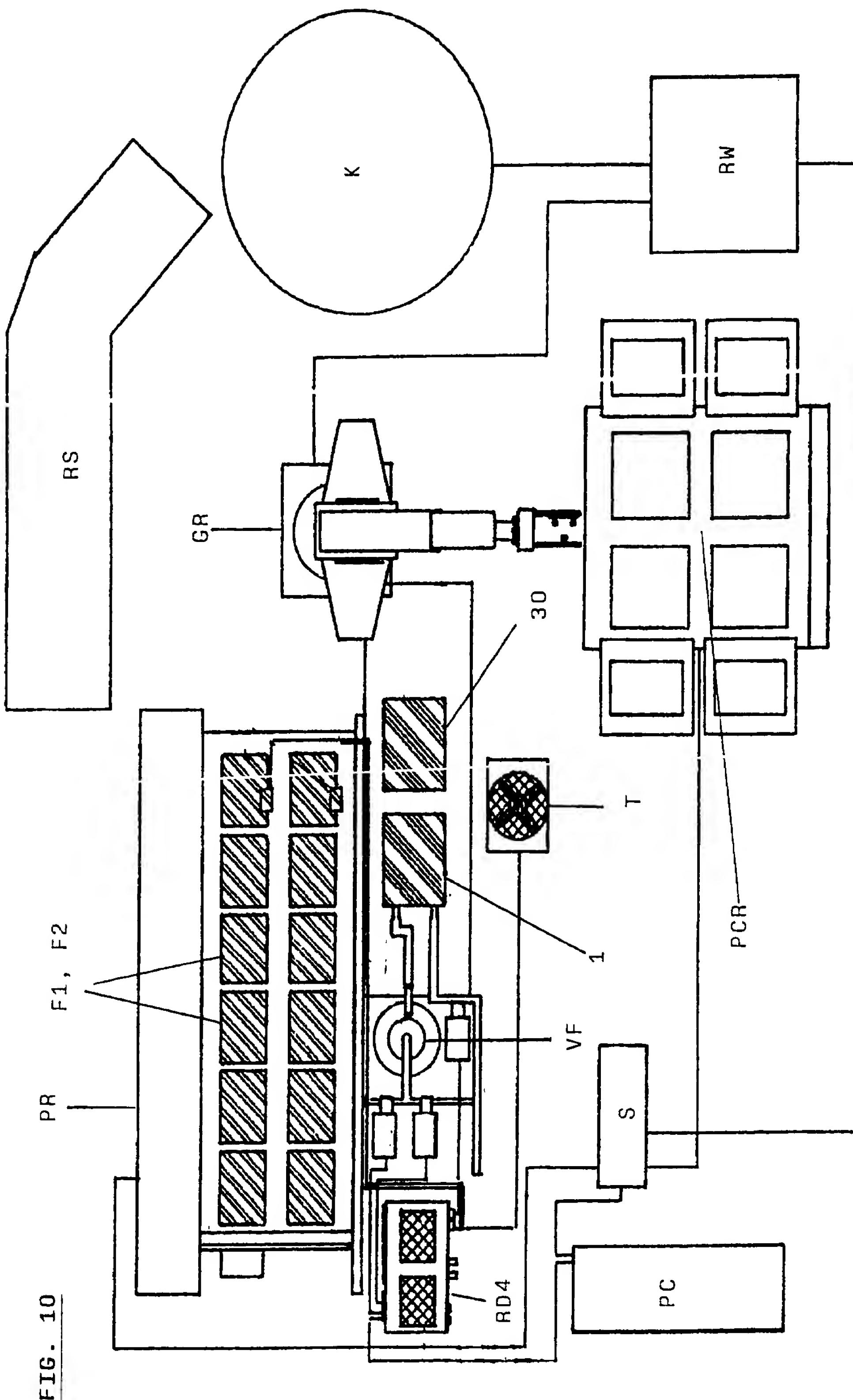


FIG. 10

FIG. 11